بسمه تعالی

دل هر ذره را که بشکافی
آفتابیش در میان بینی

هاتف اصفهانی

دانش و فناوری ۱۱

پلیمرها در نانوپزشکی

مترجمان به ترتیب حروف الفبا:

دکتر غلامرضا احمدی، دکتر مصطفی راهوار، مژده صفری، دکتر رقیه وکیلی قرطاول

دانش‌آموختگان و دانشجویان دکتری تخصصی نانوفناوری پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

زیر نظر:

دکتر رضا فریدی مجیدی

عضو هیئت علمی گروه نانوفناوری پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

سرشناسه: کونوجی، شیگرو، ۱۹۴۹- م. Kunugi, Shigeru, ۱۹۴۹-
عنوان و نام پدیدآور: پلیمرها در نانوپزشکی / نویسندگان شیگرو کانوگی، تتسوجی یامائوکا ؛ مترجمان به ترتیب حروف الفبا غلامرضا احمدی ... [و دیگران] ؛ گردآوری رقیه وکیلی‌قرطاول ؛ زیر نظر رضا فریدی‌مجیدی.
مشخصات نشر: تهران: تعالی اندیشه، ۱۳۹۸.
مشخصات ظاهری: ۳۲۲ص.: مصور، جدول، نمودار.
فروست: دانش و فناوری؛ ۱۱.
شابک: ۲-۱۳-۸۱۴۹-۶۰۰-۹۷۸ : ۶۸۰۰۰۰ریال
وضعیت فهرست نویسی: فیپا
یادداشت: مترجمان به ترتیب حروف الفبا غلامرضا احمدی، مصطفی راهوار، مژده صفری، رقیه وکیلی‌قرطاول.
یادداشت: عنوان اصلی: Polymers in nanomedicine, ۲۰۱۲.
موضوع: نانوپزشکی
موضوع: Nanomedicine
موضوع: پلیمرها در پزشکی
موضوع: Polymers in medicine
شناسه افزوده: یامائوکا، تتسوجی
شناسه افزوده: Yamaoka, Tetsuji
شناسه افزوده: وکیلی قرطاول، رقیه، ۱۳۶۱-، گردآورنده
شناسه افزوده: Vakili Ghartavol, Roghayyeh،
شناسه افزوده: فریدی مجیدی، رضا
رده بندی کنگره: R۸۵۷
رده بندی دیویی: ۶۲۰/۵
شماره کتابشناسی ملی: ۵۸۹۴۴۷۷

ناشر: **انتشارات تعالی اندیشه**
نام کتاب: **پلیمرها در نانوپزشکی**
نویسندگان: **شیگرو کانوگی، تتسوجی یامائوکا**
ترجمه زیر نظر: **دکتر رضا فریدی مجیدی، عضو هیئت علمی گروه نانوفناوری پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران**
مترجمان: **غلامرضا احمدی، مصطفی راهوار، مژده صفری، رقیه وکیلی قرطاول**
ویرایش علمی: رقیه وکیلی قرطاول
طراحی یونیفرم و صفحه‌آرایی: **حسین کریم‌زاده**
ناظر فنی: **نجمه کتابچی**
شابک: **۱-۲-۹۳۱۱۵-۶۰۰-۹۷۸**
شمارگان: **۳۰۰ نسخه**
نوبت چاپ: **اول ۱۳۹۸**
بها: **۶۸۰۰۰ تومان**
حقوق چاپ و نشر، محفوظ و متعلق به ناشر است
پست الکترونیک: taali. andisheh@publicist. com
تلفن: **۸۸۹۹۶۴۳۲ - ۰۹۳۰۱۹۳۴۷۹۱**
وب‌سایت: www. TAPbook. ir

. . . جمال شاهد ازلی را جز به دیده بصیرت نتوان دید
و به کوی او جز با پیر خرد گذر نتوان کرد
ذات کبریایی او قابل ادراک و ابصار نیست
فروغ او است که در باطن و ظاهر و اشیا جلوه‌گر است
برای این که هر فردی را به کمال مطلوب خویش رساند
از هر موجودی پرتو نور او ساطع است
و در هر ذره از ذرات این نشانه موجود
که اوست خدای یگانه که هستی هر هستی به هستی اوست.

* بخشی از ترجمه فارسی وصیت‌نامه ابوعلی‌سینا

فهرست

مقدمه مترجمان ۹

فصل اول ۱۳
پلیمرهای عامل‌دارشده برای رسانش اسیدهای نوکلئیک

فصل دوم ۵۱
استفاده از نانوذرات پلیمری زیست‌تخریب‌پذیر به‌عنوان ادجوانت واکسن و حامل‌های رسانش:
تنظیم سیستم ایمنی توسط واکسن‌هایی براساس نانوذرات

فصل سوم ۸۹
مواد زیست‌پزشکی حاصل از پلیمرهای خودآرای زیست‌تخریب‌پذیر

فصل چهارم ۱۴۵
فن‌آوری پگیله‌کردن در نانوپزشکی

فصل پنجم ۱۷۵
تنظیم عملکردهای سلولی با استفاده از هیدروژل زیست‌سازگار تشکیل شده از پلیمرهای فسفولیپیدی

۱۹۹ **فصل ششم**
طراحی سطح در طب بازساختی

۲۴۱ **فصل هفتم**
پیشرفت در روش‌های مهندسی بافت برای درمان تحلیل دیسک مهره‌ای:
سلول‌ها و داربست‌های پلیمری برای ترمیم پالپسوس نوکلئوس

۲۷۷ **فصل هشتم**
نانوذرات عامل‌دار شده زیست‌سازگار برای تصویربرداری
و درمان اختصاصی

پیشگفتار

فن‌آوری نانو شامل دستکاری مواد در مقیاس اتمی و مولکولی است. این فن‌آوری مواد را به منظور خلق محصولات جدید از رایانه تا میکروماشین‌ها ترکیب می‌کند و حتی عملکرد کوانتومی مواد را نیز شامل می‌شود. کنترل ساختاری مواد در مقیاس نانومتری می‌تواند منجر به شناسایی خواص جدیدی در مواد شود که کاملاً متفاوت با ویژگی‌هایی است که توسط روش‌های معمول ایجاد می‌شود و انتظار می‌رود نوآوری‌های فناورانه‌ای در مواد مختلف از جمله فلزات، نیمه رساناها، سرامیک‌ها و مواد آلی مشاهده شود.

کاربرد فن‌آوری نانو در مراقبت‌های پزشکی پیشرفته، با عنوان نانوپزشکی شناخته می‌شود. نانوپزشکی مجموعه گسترده‌ای از زمینه‌های علمی و فن‌آوری اعم از جنبه‌های اساسی مربوط به ایجاد مواد جدید تا کاربردهای واقعی در پزشکی بالینی را پوشش می‌دهد.

اصطلاح «نانوپزشکی» در ابتدا در سال ۱۹۹۰ توسط Drexler بیان شد. موسسه ملی فن‌آوری نانو در ایالات متحده آمریکا (۲۰۰۰) بهبود مراقبت‌های بهداشتی پیشرفته را به‌عنوان یکی از مفاهیم فن‌آوری نانو معرفی می‌کند. استفاده از نانوپزشکی در اروپا نیز در سال ۲۰۰۵ آغاز شد. در این دهه، بیش از ۳۰۰ مقاله مروری در زمینه نانومواد منتشر شده‌است. در حال حاضر، کاربردهای شناخته شده و امیدبخش نانومواد به شرح زیر است:

۱) توسعه دارو با استفاده از نانوسفر، نانومیسل‌ها، نانوکپسول‌ها و نانوالیاف ۲) تنظیم وجه مشترک بین مواد و سلول‌ها/ بافت‌ها، و ۳) تصویربرداری در ابعاد نانومتری، که شامل تصویربرداری تک مولکولی با استفاده از سیستم‌های نوری ویژه و همچنین تصویربرداری کامل بدن با وضوح بسیار بالا.

نانومواد عملکردهای مختلفی در زمینه پزشکی دارند. در بدن انسان، مواد با ساختار نانو رفتار بسیار متفاوتی با ذرات بزرگ‌تر نشان می‌دهند. در سال ۱۹۸۶ Maeda و همکاران متوجه شدند که آلبومین رنگ شده سایزی در حد چندین نانومتر دارد و به طور طبیعی در منطقه بافت‌های سرطانی تجمع می‌یابد که امروزه به‌عنوان اثر افزایش نفوذ پذیری و احتباس (EPR) شناخته می‌شود که بسیاری از مطالعات در زمینه نانوذرات مبتنی بر این یافته است. یکی دیگر از کاربردهای نانوذرات، سیستم تحویل با استفاده از پلی‌پلکس‌های مختلف است که از مولکول‌های حامل و DNA پلاسمید و یا داروهای اسیدنوکلئیکی مانند ضدانسداد و siRNA تشکیل شده‌است. علاوه بر این، نانوالیاف به دلیل خواص چسبندگی سلولی مناسب، عمدتاً به‌عنوان داربست‌های زیست‌تخریب‌پذیر در مهندسی بافت استفاده می‌شوند. دومین حوزه تنظیم نانومقیاس وجه مشترک بین مواد و سلول‌ها/ بافت است. اخیراً، تنظیم ریزمحیط برای سلول‌های بنیادی، که تحت‌عنوان نیچ‌های[1] سلول بنیادی معروف است، توجه زیادی را به خود جلب کرده است. قابلیت ارتجاع ماتریکس، الگودهی[2] اتصالات سلول ها در مقیاس نانومتری و تحرک و پویایی وجه مشترک‌ها راهنمای خیلی مهم عملکرد سلول هستند. سومین حوزه نانوتصویربرداری[3] می‌باشد. کوانتوم‌دات‌ها که ابزاری قوی برای تصویربرداری درون‌تن هستند، فلوئوفورهای غیرآلی مفید و خوش آتیه و یکی از مهم‌ترین نانومواد هستند. نوع دیگر این حوزه، تصویربرداری مولکولی است مثل تصویربرداری رزونانس مغناطیسی با استفاده از اکسید آهن سوپرپارامغناطیس و توموگرافی میکروکامپیوت[4] که پیشرفت قابل توجهی داشته‌اند.

پلیمرها و مواد پلیمری مواد آلی مهمی هستند و در تحقیقات و پیشرفت نانوداروها نقش خیلی مهمی دارند. مواد پلیمری که در این زمینه مفید هستند، بر طبق طبیعت شیمیایی به‌صورت زیر دسته‌بندی می‌شوند: ۱) پلیمرهای مصنوعی (زیست‌سازگار) محلول در آب،

---

[1] niches
[2] nanopatterninig
[3] nanoimaging
[4] microcomputed tomography

۲) کمپلکس‌های پلی‌الکترولیت و پلی‌یون ۳) پلیمرهای طبیعی و ۴) پلیمرهای مصنوعی زیست‌تجزیه‌پذیر. به عبارت دیگر مورفولوژی و ساختارهای خیلی منظم مواد استفاده شده مثل نانوسیم‌ها، ذرات، وزیکول‌ها، کپسول‌ها، پوسته‌ها، ژل‌ها، قفس‌ها، اسکلت و غشاهای فیلم می‌توانند به‌عنوان موضوعات کلیدی و مهم بررسی شوند. برای مثال مهندسی بافت به ساختارهای دو یا سه‌بعدی نیاز دارد که از پلیمرهای زیست‌تجزیه‌پذیر ساخته شده‌باشد و سنتز نانوذرات به طبیعت خودآرایی شونده پلیمرها یا پیش‌پلیمرها بستگی دارد.

چندین مقاله‌ی مروری که نقش مواد پلیمری در نانوداروها را مورد بحث قرار داده، منتشر شده‌است. این جلد «پلیمرها در نانوپرشکی» در دسته‌ی مطالعات پیشرفت‌های علم پلیمر، یکی از کتاب‌های مروری‌مدار است که به مطالعه‌ی علم پلیمر برای استفاده در نانوفن‌آوری پزشکی پرداخته است.

این کتاب، اهمیت طبیعت شیمی مواد پلیمری را بررسی کرده و سه مضمون اصلی که باعث کاربرد واقعی آن‌ها در نانوداروها می‌شود را مورد هدف قرار داده‌است. با توجه به سامانه‌های رهایش پلیمری، سامانه‌های رهایش مخصوص اسیدهای نوکلئیک، سامانه‌های رهایش واکسن-آنتی‌ژن مرور خواهد شد. علاوه‌براین سامانه‌های رهایش عمومی دارو با استفاده از پلیمرهای مصنوعی زیست‌تجزیه‌پذیر و داروهای اصلاح شده با پلی(اتیلن گلیکول) بحث خواهد شد. فهم و کنترل پاسخ‌های زیستی به مواد مصنوعی و درمان‌های مهندسی بافت برای توسعه‌ی درمان‌های مهندسی بافت و تجهیزات پزشکی اهمیت زیادی دارد. کنترل اتصال سلول، اصلاح سطوح سلول، و توسعه‌ی داربست‌های زیست‌پلیمر در قسمت مهندسی بافت مرور خواهد شد. آخرین موضوع و مهم‌ترین آن‌ها که بحث خواهد شد، روش‌های تصویربرداری و درمانی خواهد بود.

این کتاب موضوعات طراحی مولکولی تا معماری بافت را پوشش می‌دهد و به پیشرفت تحقیقات در این حوزه‌ی در حال توسعه کمک زیادی خواهد کرد.

در نهایت از همه‌ی دوستان و همکارانی که در ترجمه و چاپ این کتاب ما را یاری کردند سپاسگزاری می‌کنیم.

مترجمان

تابستان ۱۳۹۸

۱ پلیمرهای عامل‌دارشده برای رسانش اسیدهای نوکلئیک

مترجم: دکتر غلامرضا احمدی

از اسیدهای نوکلئیک می‌توان به‌عنوان داروهایی جدید و نوظهور برای دستکاری بیان ژن‌ها و رسیدن به درمان مفید و کنترل شده در بسیاری از بیماری‌ها استفاده کرد. به‌دلیل خصوصیات فیزیکوشیمیایی ویژه، ورود اسیدهای نوکلئیک به فضای داخل سلولی و اعمال اثرات درمانی آن‌ها، با محدودیت‌هایی روبروست. برای رفع محدودیت فوق، از پلیمرها به‌عنوان حامل‌هایی جهت رسانش و همچنین محافظت از اسیدهای نوکلئیک در برابر آنزیم‌ها استفاده می‌شود. این حامل‌ها از طریق لیگاندهای خاصی به دیواره سلولی اتصال پیدا می‌کنند و پس از برداشت سلولی اثرات درمانی خود را ایفا می‌کنند. همچنین حامل-های پلیمری در مراحل بعدی رسانش داخل سلولی مانند فرار از اندوزوم‌ها نیز اثر تعیین‌کننده‌ای دارند. برحسب محلی که ژن مربوطه عملکرد خود را ایفا خواهد کرد، حامل‌های پلیمری در مهاجرت در سیتوزول، ورود به هسته سلول و ارائه اسیدنوکلئیک به شکل فعال نقش خواهند داشت. به‌صورت ایده‌آل آن‌ها در تعامل زیستی عمل می‌کنند تا بتوانند مراحل مختلف رسانش را انجام دهند. در این فصل به پیشرفت‌هایی پرداخته خواهد شد که با استفاده از پلی‌پلکس‌های حاوی اسیدهای نوکلئیک صورت گرفته‌است و همچنین آزمایشات بالینی نیز مورد بحث و بررسی قرار می‌گیرد.

به‌عنوان مثال از این گروه می‌توان به الیگونوکلئوتیدهای آنتی‌سنس (antisense)، آنتاگومیده، mRNA و یا SiRNA اشاره نمود.

فهرست مطالب

۱- مقدمه

۲- عملکردهای لازم برای پلی‌پلکس‌ها تا بتوانند به موانع و سدهای رسانش غلبه کنند

- **انتقال خارج سلولی**
- **هدف‌گیری سلولی و برداشت داخلی سلولی**
- **انتقال داخل سلولی**

۳- طراحی پلیمری که فعالیت آن بر اساس پاسخ به محیط بیولوژیکی باشد

- **پوشش و محافظت پلی‌پلکس‌های پاسخگو به شرایط زیستی**
- **برهمکنش دولایه لیپیدی پاسخگو به شرایط زیستی**
- **پایداری پلی‌پلکس پاسخگو به شرایط زیستی**

۴- راهبردهای درمانی

- **درمان‌های موضعی و** Ex vivo
- **درمان‌های سیستمیک**

۵- نتایج

۱- مقدمه

پلیمرها را می‌توان طوری طراحی نمود که سبب تحریک سیستم ایمنی نشوند و زیست‌سازگار باشند، دارای خصوصیات فیزیکوشیمیایی مختلف باشند و همچنین گروه‌هایی جهت ایجاد پیوند با سایر مولکول‌ها (کووالانسی و غیرکووالانسی) روی آن‌ها موجود باشد. در واقع با به‌کارگیری آن‌ها به‌عنوان حامل‌های دارویی هدفمند با نتایج تکرار شونده، اثرات دارویی طولانی مدت را می‌توان ایجاد نمود [۱]. اسیدهای نوکلئیک با خواص دارویی (یا به‌عنوان دارو) گروه جدیدی از داروها با نتایج درمانی هیجان انگیز را تشکیل می‌دهند. از دیدگاه عملکردی، حداقل سه گروه یا سه زیرگروه از آن‌ها را می‌توان تعریف کرد. گروه اول سبب القاء بیان ژن از طریق توالی‌های موجود در اسیدهای نوکلئیک رسانش‌شده می‌شوند. مثال‌هایی از این گروه عبارتند از حامل‌های PDNA (حاوی پلاسمید) [۸-۲]، mRNAهایی که به‌صورت شیمیایی و یا طبیعی تغییراتی در آن‌ها داده شده‌است [۱۰،۹]، الیگونوکلئوتیدهایی که بر روی اگزون‌ها قرار می‌گیرند [۱۱] و آنتاگونیست‌های microR-NA (antagomir[1]) [۱۲ و ۱۳]. گروه دوم ژن را خاموش کرده و یا به‌اصطلاح جلوی بیان

---

[1] دسته جدیدی از الیگونوگلئوتیدهای مهندسی شده که از اتصال سایر مولکول‌ها به محل‌های خاصی از mRNA جلوگیری نموده و با اتصال microRNA این کار را انجام می‌دهند.

آن‌را می‌گیرند و شامل الیگونوکلئوتیدهای آنتی‌سنس [۱۵ و ۱۴]، RNA مداخله‌گر کوتاه مصنوعی(siRNA) [۲۳-۱۶]، microRNA [۲۴]، ریبوزوم‌ها [۲۵] و تله‌های DNA [۲۶] هستند. در گروه سوم اسیدهای نوکلئیک مستقیماً با پروتئین‌ها وارد برهم‌کنش شده و می‌توانند به شکل آپتامرهای RNA و DNA باشند [۲۸ و ۲۷] و یا سبب تحریک سیستم ایمنی و آپوپتوز از طریق القاء RNA شوند [۳۱-۲۹]. درحقیقت رسانش هدفمند، یکی از چالش‌های پیش روی توسعه بیشتر این اسیدهای نوکلئیک دارویی است.

در عرصه درمان با پلیمرهای حاوی اسیدهای نوکلئیک، کاربردهای بالینی آن‌ها با چالش‌ها و موانع زیادی روبروست. علیرغم پیشرفت‌های چشمگیری که در طول سه دهه در حامل‌های پلیمری صورت گرفته‌است، چالش‌های اساسی زیر هنوز مطرح هستند [۳۵-۳۲]:

۱- ماکرو مولکول‌های پلیمری در مقایسه با سایر مولکول‌های شیمیایی ساختارهای پیچیده‌ای دارند که ساخت شیمیایی و آنالیز دقیق آن‌ها را مشکل می‌سازد.

۲- ایجاد کمپلکس‌هایی با خواص کنترل شده از حامل‌های پلیمری و اسیدهای نوکلئیک به شکل نانوذرات واحد مشکل است.

۳- برای رسانش بهینه و هدفمند اسیدهای نوکلئیک دارویی به فضای داخل و خارج سلولی، فهم بهتر مکانیسم‌ها و مسیرهای جایگزین لازم و ضروری است.

در این فصل سدها و موانع رسانش اسیدهای نوکلئیک دارویی و همچنین چگونگی غلبه بر آن‌ها با استفاده از پلیمرهای حامل دارو مرور و بررسی می‌گردد (قسمت دوم این فصل). همچنین راهکارهای شیمیایی برای طراحی پلیمرهای پاسخگو به شرایط بیولوژیکی و مزایای این سیستم پویا در گام‌های مختلف رسانش مورد بحث و بررسی قرار می‌گیرند. (قسمت سوم این فصل). راهکارها و خط مشی‌های کنونی با استفاده از این اسیدهای نوکلئیک دارویی در آزمون‌های پیش بالینی و بالینی نیز ارائه خواهد شد (قسمت چهارم این فصل).

۲- عملکردهای لازم برای پلی‌پلکس‌ها جهت غلبه بر سدهای رسانش

اسیدهای نوکلئیک، قطبی و بسیار بزرگ هستند. به همین دلیل نمی‌توانند به‌صورت غیرفعال به فضای داخل سلولی از بخش‌های مختلف یک بافت وارد شوند و عملکرد درمانی خود را اعمال کنند. به علاوه سیستم دفاعی میزبان آن‌ها را به سرعت شناسایی کرده و به سادگی توسط آنزیم‌های نوکلئازی تجزیه می‌گردند. پلیمرهای کاتیونی با فسفات موجود در ساختار اسیدهای‌نوکلئیک از طریق برهم‌کنش الکترواستاتیک، بسته‌های کوچکی به نام پلی‌پلکس [۳۶] را می‌سازند و از آن‌ها در برابر تجزیه محافظت می‌کنند. اتصال فوق به عواملی مانند چگالی بار الکتریکی، اندازه، انعطاف‌پذیری و شکل فضایی پلیمر بستگی دارد. به‌عنوان مثال از پلیمرهای

خطی مانند پلی-ال- لیزین (PLL[2]) [۳۸،۳۷]، پلی‌اتیلن‌ایمین (LPEI[3]) [۳۹]، سایر انواع پلیمرهای خطی [۴۱-۴۰]، پلیمرهای شاخه‌دار مانند پلی‌اتیلن‌ایمن شاخه‌دار (brPEI[4]) [۴۲] و دندریمرهایی مانند پلی‌آمیدوآمین (PAMAMs[5]) [۴۶-۴۳] برای ساخت پلی‌پلکس‌ها استفاده شده‌اند. علاوه بر پیوندهای الکترواستاتیک، پیوند هیدروژنی [۴۷] و برهمکنش‌های آب‌گریز پلیمری [۴۹،۴۸] نیز بر پایداری پلی‌پلکس‌های حاصل می‌افزایند. لازم به ذکر است که همچنین ایجاد شبکه قفس مانند پلیمری [۵۲-۵۰] و یا اتصالات کووالانسی با اسیدهای نوکلئیک [۵۷-۵۳] برای بارگذاری اسیدهای نوکلئیک در پلیمرها مورد تحقیق و بررسی قرار گرفته‌است.

پلیمرها می‌توانند به‌صورت مستقیم و یا غیرمستقیم (از طریق لیگاند) به سلول متصل و سبب برداشت سلولی محموله مورد نظر شوند. آن‌ها همچنین می‌توانند در مراحل مختلف انتقال داخل سلولی مانند فرار از آندوزم‌ها، انتقال سیتوزولی، برداشت هسته‌ای و سیتوزولی اسیدهای نوکلئیک در شکل فعال زیستی خود عمل کنند.

◻ انتقال خارج سلولی

اعمال موضعی حامل‌های ژن‌ها و سایر اسیدهای نوکلئیک درمانی مانند آئروسل‌ها به ریه، تزریق‌های عضلانی [۵۸، ۵، ۲]، مغز [۵۹] چشم [۶۰] یا به داخل تومورهای جداشده [۶۱،۸،۴] می‌تواند برای درمان برخی از بیماری‌ها مؤثر باشد.

برای بسیاری از کاربردهای درمانی، تزریق وریدی به‌عنوان روش ارجح درمانی انتخاب می‌شود. با این وجود سدهای عروقی، برهمکنش‌های ناخواسته با سطوح بیولوژیکی مانند پروتئین‌های خونی، ماتریکس خارج سلولی، سلول‌های ایمنی و رسانش به سایر سلول‌هایی غیرهدف سبب می‌شود که تنها کسر کوچکی از آن‌ها به محل هدف برسند. پلیمرهای کاتیونی استفاده‌شده در ساخت پلی‌پلکس‌ها سبب فعال شدن قسمتی از سیستم ایمنی ذاتی به نام سیستم کمپلمان می‌شود [۶۲] و از این طریق توسط سیستم رتیکولواندوتلیال برداشت و حذف می‌شود [۶۴،۶۳]. همچنین از هم پاشیدن ساختار پلیمری پلی‌پلکس‌ها توسط پروتئین‌های سرم و ماتریکس خارج سلولی، چالش عمده‌ای در استفاده از پلی‌پلکس‌ها به حساب می‌آید [۶۷- ۶۵].

برخی از مشکلات یادشده فوق را می‌توان با پوشاندن پلی‌پلکس‌ها توسط پلی‌اتیلن‌گلیکول

---

[2] poly(L-lysine)
[3] linear polyethylenimine
[4] branched PEI
[5] polyamidoamines

(PEG) برطرف نمود که به این عمل اصطلاحاً پگیلاسیون اطلاق می گردد. پگیلاسیون به‌صورت گسترده‌ای جهت پوشاندن سطح بسیاری از حامل‌های لیپوزومی و نانوذرات مورد بررسی قرار گرفته‌است. آقای پلانک و همکارانش نشان داده‌اند که با پگیله‌کردن پلیمرها فعالیت سیستم کمپلمان کاهش می‌یابد [۶۲]. پگیلاسیون با الحاق مستقیم و کووالانسی PEG به حامل پلیمری [۷۲-۶۸]، اتصال مستقیم PEG به اسیدهای نوکلئیک [۷۴، ۵۵، ۷۳]، الحاق PEG پس از تشکیل پلی‌کمپلکس [۷۷-۷۵] و یا با اتصال غیرکووالانسی ایجاد می‌شود [۷۸،۷۹]. پگیله‌کردن پلی‌پلکس‌ها دارای مزایای فراوانی است، از جمله آن‌ها عبارتند از افزایش حلالیت حامل، کاهش برهم‌کنش با سلول‌های خونی و پروتئین‌های سرم، ایجاد زیست‌سازگاری بهتر و افزایش زمان ماندگاری در گردش خون [۶۴، ۸۰، ۸۱]. علاوه بر پگیله‌کردن توسط PEG، از مولکول‌های آب دوست دیگری نیز برای کاهش بار سطحی مثبت پلی‌پلکس‌ها استفاده شده‌است. به‌عنوان مثال می‌توان به پلی‌هیدروکسی‌پروپیل‌متاکریلات [۸۳،۸۲]، هیالورونان/اسیدهیالورونیک [۸۵،۸۴]، پلی‌آنیون‌های مختلف مانند گاماپلی‌گلوتامیک اسید [۸۷،۸۶] و گیرنده ترانسفرین سرم [۸۸] اشاره نمود.

پلی‌پلکس‌های پوشیده‌شده که مدت زمان بیشتری در خون گردش می‌کنند، برای درمان سیستمیک سرطان بسیار مفید هستند. این خصوصیت بنام اثر enhanced Permeability & retention نامیده می‌شود [۸۹]. این اثر بر اساس نفوذپذیر بودن عروق توموری است که همراه با نقص EPR یا تخلیه سیستم لنفاوی در محل تومور، سبب اجتماع نانوذرات در محل تومور خواهدشد. نانوذراتی که زمان بیشتری در گردش خون حضور دارند، با احتمال بیشتری از عروق بافت توموری گذر کرده و .در آن محل تجمع می‌یابند

پوشاندن سطح پلی‌پلکس‌ها با وجود حل چندین مشکل اساسی، سبب بروز مشکلات دیگری نیز خواهد شد؛ به‌عنوان مثال ممکن است برداشت سلولی را به‌شدت کاهش دهد [۶۸،۶۹]. در مطالعه پلی‌پلکس‌هایPEI/pDNA (پلی‌اتیلن‌ایمین و DNA پلاسمید)، پگیلاسیون سبب کاهش پایداری پلی‌پلکس در محیط درون‌تن شده‌است [۸۱، ۶۵، ۶۴].

□ هدف‌گیری سلولی و برداشت داخل سلولی

برای رسانش حامل به سلول مورد نظر، می‌توان گیرنده‌های سطح سلول را به‌عنوان هدف انتخاب کرد. هدف‌گیری گیرنده‌های سطح سلول برای افزایش اتصال پلی‌پلکس‌ها به سطح سلول، برداشت از راه آندوسیتوز وابسته به گیرنده و یا سایر مسیرهای برداشت سلولی لازم و ضروری است. لیگاندهای مختلفی برای رسانش اسیدهای نوکلئیک یافت شده‌اند [۹۴-۹۰]. به‌عنوان مثال ویتامین‌ها، کربوهیدرات‌ها، پپتیدها، پروتئین‌ها، گلیکوپروتئین‌ها، آنتی

بادی‌ها با تغییرات مختلف و یا آپتامرهای اسیدهای نوکلئیک لیگاندهایی هستند که در مطالعات مختلف از آن‌ها استفاده شده‌است. باید درنظر داشت که وجود لیگاند صرفاً ضمانتی برای رسانش هدفمند نیست، زیرا هیچ‌گونه ماده کموتاکسی در رسیدن لیگاند به گیرنده سطح سلول دخالتی ندارد. پلی‌پلکس حاوی لیگاند باید بتواند به طریقی (مانند هدف‌گیری غیرفعال Passive) خود را به گیرنده برساند تا اتصال لیگاند و گیرنده حاصل شود. گروه‌های مختلف تحقیقاتی نشان داده‌اند که اجتماع غیرفعال پلی‌پلکس‌های هدفمند و غیرهدفمند درمحل ضایعه با احتمال یکسانی رخ می‌دهد. حفظ فعال حامل و اندوسیتوز در سلول‌های هدف تفاوت عملکردی و مزیت عمده‌ای است که نانوحامل‌های حاوی لیگاند دارا هستند.

ترانسفرین یک گلیکوپروتئین ۸۰ کیلودالتونی با قابلیت حامل آهن است و توسط گیرنده-های مخصوص سطح سلول، از طریق اندوسیتوز وابسته به کلاترین سبب انتقال آهن به داخل سلول می‌شود. بیان گیرنده‌های ترانسفرین (TFR) روی سطح سلول‌های توموری بیشتر از سطح معمول آن در سلول‌های سالم است. ترانسفرین طبیعی به سطح سلول بازیافت می‌گردد، ولی ترانسفرین متصل‌شده با حامل‌ها به قسمت‌های مختلف داخل سلولی وارد می‌شوند. به همین دلیل ترانسفرین به‌عنوان یک لیگاند برای رسانش داروها، پروتئین‌ها و ژن [۹۵] مانند رسانش DNA پلاسمید [۱۰۵- ۹۶، ۸۸، ۶۸] و siRNA [۱۰۸-۱۰۶] عمل می‌کند.

دراغلب موارد ترانسفرین از کانژوگه مستقیم با مولکول‌های اتصال یافته به DNA وارد ساختار پلی‌پلکس می‌شود. مثال‌هایی از این نوع می‌تواند همودیمر اتیدیوم [۹۹] و بسیاری از پلی‌کاتیون‌ها مانند پلی-ال-لیزین و پروتامین [۹۸-۹۶]، پلی‌اتیلن‌ایمین [۶۸،۱۰۰] دندریمر پلی‌پروپلین‌ایمین [۱۰۴] و یا دندریمر پلی‌آمیدوآمین [۱۰۳] باشند. اتصال از طریق تغییر آمین‌های لیزین مربوط به ترانسفرین با یک لینکر دوعاملی [۹۷] و یا از طریق کربوهیدرات‌های ترانسفرین که توسط پریودات[6] اکسید شده‌اند، صورت می‌گیرد [۱۰۲ و ۹۲]. در برخی از موارد از یک پل ارتباطی توسط PEG جهت این اتصال استفاده می‌شود [۱۰۳ و ۶۸]. البته ترانسفرین از طریق غیرمستقیم نیز به پلی‌پلکس‌ها اتصال می‌یابد. ترانسفرین فعال شده پس از ایجاد پلی‌پلکس به آن اضافی می‌شود [۱۰۹] یا به کوپلیمرهای پوشاننده سطح پلی‌پلکس کانژوگه می‌گردد [۸۲]، همچنین از کانژوگه‌های آدامانانتان[7]-PEG جهت اتصال غیرکووالانسی پلیمرهای کاتیونی سیکلودکسترینی جهت اتصال ترانسفرین استفاده می‌شود [۱۰۱،۱۱۰].

---

6 periodate
7 adamantane

بیان گیرنده فاکتور رشد اپی‌درمال EGFR[8] در برخی از سرطان‌ها مانند گلیوبلاستوما[9]، ریه و کانسر کولورکتال[10] افزایش می‌یابد. مولکول‌های مختلفی مانند پروتئین نوترکیب EGF [۱۱۴-۱۱۱]، آنتی‌بادی‌های متصل‌شونده به EGFR [۱۱۵] و پپتیدها [۱۱۶،۱۱۷] که قابلیت اتصال به این گیرنده را دارند، می‌توانند به‌عنوان لیگاند هدفمند در ساختار پلی‌پلکس‌ها مورد استفاده و بررسی قرار گیرند. در آزمونی از پلی‌پلکس پگیله‌شده حاوی فاکتور رشد اپیدرمال[11] (EGF/PEG/LPEI) جهت بررسی برداشت سلولی در سلول‌های سرطانی کبدی HuH7 استفاده شد. دراین سلول‌های سرطانی، بیان EFG بالاست و برداشت سلولی توسط میکروسکوپ فلورسانت بررسی گردید. (سلول‌های سرطانی تحت عملیات نوترکیبی دارای فلورسانت متصل به اکتین GFP tagged actin جهت مشاهده اسکلت سلولی اکتین و همچنین فلورسانت متصل به توبولین جهت مشاهده میکروتوبول‌ها GFP tagged tubalin بودند). در فاز ابتدایی هر دو نوع پلی‌پلکس هدفمند شده با EGF وغیرهدفمند، به سطوح سلول‌ها اتصال یافتند و شروع به انتشار آهسته به داخل سلول نمودند که گمان می‌شود با کمک مولکول‌های آداپتور داخل غشایی این عمل صورت گرفته‌باشد. وجود عامل هدفمند EGF در پلی‌پلکس فوق سبب تسریع برداشت سلولی می‌شود، به طوری‌که پس از پنج دقیقه ۵۰٪ از پلی‌پلکس‌های هدفمند به فضای داخل سلولی راه یافتند؛ درصورتی‌که تنها ۱۰٪ از پلی‌پلکس‌های بدون EGF موفق به راهیابی به داخل سلول‌ها شدند [۱۱۴]. در فضای داخل سلول نیز پلی‌پلکس‌ها به اندوزم‌ها راه یافتند و در طول اسکلت سلولی میکروتوبول‌ها مهاجرت نمودند.

لیگاندهای دیگری نیز جهت بررسی رسانش هدفمند پلیمرها به تومور مورد بررسی قرار گرفته‌اند [۱۲۴-۱۱۸]. به‌عنوان مثال، از گیرنده‌ای بنام بومبزین (bombesin) می‌توان نام برد که به‌صورت مولکول‌های کوچکی بر روی سطح سلول‌های کارسینومای ریه ومعده وجود دارند. از پپتید بومبزین که قابلیت اتصال به این گیرنده‌های کوچک را دارد و جهت رسانش پلی‌پلکس حاوی siRNA به سلول‌های سرطانی استفاده شده‌است [۱۲۲]. همچنین بیان گیرنده‌های فولات در سلول‌های سرطانی افزایش می‌یابد. بنابراین از مولکول فولات با وزن مولکولی پایین برای رسانش پلی‌پلکس‌های حاوی DNA پلاسمیدی [۱۲۳] و همچنین siRNA متصل با فولات از طریق یک لینکر کوتاه استفاده شده‌است [۱۲۴].

در بافت عروقی تومورها، بیان افزایش یافته‌ای ازاینتگرین‌های خاص و سایر مارکرهای سطحی

---

8 Epidermal growth factor receptor
9 glioblastoma
10 Colorectal cancer
11 Epidermal growth factor

وجود دارد که می‌توان برای هدفمندسازی در ساختار پلی‌پلکس‌ها از آن‌ها استفاده کرد. استفاده از توالی پپتیدی RGD جهت رسانش DNA پلاسمیدی و siRNA به سلول‌هایی که بیان اینتگرین در آن‌ها بالا بود، نتایج موفقیت‌آمیزی را نشان داده‌است [۱۲۸-۱۲۵].

در بسیاری از موارد، PEG که حاوی توالی پپتیدی RGD است، توسط یک لینکر به پلی‌پلکس مربوطه متصل می‌گردد. البته اتصال و پوشش زیاد RGD-PEG روی پلی‌پلکس از ورود اسیدهای نوکلئیک به هسته می‌کاهد. بنابراین باید از میزان بهینه PEG-RGD برای ایجاد پوشش استفاده نمود [۱۲۷]. پلی‌پلکس‌های RGD-PEG-PEI به‌صورت موفقیت‌آمیزی به‌صورت سیستمیک برای برای رساندن siRNA به سلول‌های سرطانی استفاده شده‌اند [۱۲۹]. در موش‌هایی که کانسر نوروبلاستوما در آن‌ها القاء شده‌بود، تجویز تکراری وریدی سبب مهار رشد تومور گردید. همچنین لیپوپلیمر EHCO با پوشش RGD-PEG جهت رسانش siRNA با خواص ضد HIF-1 به‌صورت سیستمیک تجویز شد. درمان درخاموش نمودن بیان ژن HIF-1 و مهار رشد تومور درموش‌ها مؤثر بود [۱۳۰].

پپتید NGR (حاوی توالی Asn-Gly-Arg) که آمینوپپتیداز N (CD13) در بافت آنژیوژنیک عروق توموری را شناسایی می‌کند، به‌عنوان لیگاند مورد بررسی قرار گرفته‌است. پلی‌پلکس‌های PEG-PEI/PDNA که عامل CD13 را شناسایی می‌کنند، نتایج مثبتی را نشان داده‌اند [۱۳۲،۱۳۱]. رسانش هدفمند سلولی در بافت‌های مختلفی به غیر از تومورها نیز به کار رفته‌است. به‌عنوان مثال لیگاندهای آسیالوروزوموکویید[۱۲] جهت رسانش پلیمرهای PLL به کبد مورد استفاده قرار گرفته‌اند [۱۳۵-۱۳۳]. گیرنده‌های آسیالوگلیکوپروتئینی[۱۳] تمایل بالایی برای شناسایی و اتصال به گالاکتوزید تریمریک دارند. به‌همین دلیل لیگاند-های کربوهیدراتی ساختگی زیادی مورد ارزیابی قرارگرفته و نتایج مطلوبی را جهت رسانش pDNA و siRNA درمحیط درون تن و برون‌تن به همراه داشته‌اند [۱۴۰-۱۳۶، ۵۶].

برای رسانش پلی‌پلکس‌های PAMAM-PEG به سلول‌های مغزی، لیگاندهای ترانسفرین و لاکتوفرین مورد ارزیابی قرارگرفتند [۱۴۱،۱۰۳]. درمقایسه مستقیمی که در رسانش PAMAM-PEG/pDNA توسط لیگاندهای فوق صورت گرفت، پلی‌پلکس‌های حاوی لاکتوفرین دو برابر مؤثرتر از پلی‌پلکس‌های ترانسفرین ظاهر شدند [۱۴۱]. تزریق مکرر پلی‌پلکس‌های حاوی لاکتوفرین حاوی ژن GDNF در مدل‌های موشی مبتلا به پارکینسون اثرات مطلوب و مؤثری را نشان داد [۱۴۲].

---

[۱۲] Asialoorosomucoid یک لیگاند مخصوص کبدی است.

[۱۳] Asialoglycoprotein گیرنده‌هایی روی سطح سلول هستند که از اتصال گروه‌های کربوهیدرات به پروتئین‌ها ایجاد می‌شوند.

لیگاندهای مختلفی جهت رسانش DNA پلاسمیدی به ریه‌ها مورد آزمایش قرار گرفته‌اند. گیرنده‌های ایمنوگلوبین درمجاری هوایی، اندوسیتوز بر حسب گیرنده را فعال کرد که از این خاصیت برای تزریق وریدی پلی‌پلکس‌های PLL-fab congacate/PDNA از راه استفاده شده‌است [۱۴۳]. کمپلکس پپتید-PLL که گیرنده‌های آنزیم- سرپین[۱۴] را در سطح اپی‌تلیوم راه‌های هوایی شناسایی می‌کند، نتایج مثبتی را در رسانش موضعی pDNA حاوی ژن GFTR نشان داده‌است [۱۴۴-۱۴۵]. تعداد زیادی از گیرنده‌های لاکتوفرین روی سلول‌های اپی‌تلیال برونش‌ها وجود دارد، ولی سلول‌های آلوئولار اپی‌تلیال فاقد آن هستند. تنها دراین سلول‌هاست که کونژوگه‌های لاکتوفرین- پلی‌اتیلن‌ایمین سبب بیان بالای ژن درمقایسه با پلی‌پلکس‌های PEI می‌شوند [۱۴۶]. برخلاف حالت قبل، گیرنده‌های انسولین روی سلول‌های آلوئولار بیان بالایی داشتند و روی برونش‌ها یافت نمی-شوند. پلی‌پلکس‌های PDNA/PEI که با انسولین پوشیده شده‌اند، انتقال ژن به سلول‌های آلوئولار را تا ۱۶ برابر افزایش می‌دهند [۱۴۷].

از مولکول‌های دارویی کوچک مانند سلنبوترول (Clenbuterol) که آگونیستی است که به آدنورسپتورهای I2 متصل می‌گردد [۱۴۸] و یا آنالوگ‌های پروستاگلاندین (I2 iloprost & treprostinil) که گیرنده‌های پروستاسیکلیی IP1 را شناسایی می‌کنند [۱۴۹]، برای رسانش هدفمند ژن به بافت ریه توسط PDNA/PEI استفاده شده‌است. بیان ژن در ریه موش بعد از استفاده از کمپلکس PDNA/PEI کانژوگه‌شده با ایلوپرست[۱۵]، ۱۴ بار بیشتر از پلی‌پلکس‌های ساده PEI بود.

انتخاب هوشمندانه لیگاند و گیرنده می‌تواند روی دو مسیر اتصال و برداشت سلولی تاثیر-گذار باشد. گاهی با انتخاب دو عامل می‌توان رسانش را به طور مؤثری تقویت نمود. به‌عنوان مثال ترکیبی از لیگاندهایی که یکی از آن‌ها اتصال سلولی را قوی‌ترمیکند و دیگری کارایی عمل اندوسیتوز را بالا می‌برد، تاثیر بسزایی در بالا رفتن راندمان خواهد داشت. پلی‌پلکس‌های پگلیه شده PEI/DNA با دو لیگاند RGD و B6 ترانسفکشن ژنی را طی یک عمل سینرژیک افزایش دادند. با استفاده از روش‌های فلوسیتومتری هم تماس سلولی وهم ورود به سلول با و بدون لیگاند بررسی‌شد. نتایج نشان داد که لیگاند RGD دراتصال به سلول و B6 در برداشت سلولی نقش دارند [۱۵۰]. RGD مسوول شناسایی اینتگرین سطح سلول است و B6 به گیرندهای ترانسفرین روی سطح متصل می‌شود و اندوسیتوز وابسته به گیرنده را فعال می‌کنند.

---

[۱۴] Serpin گروهی از پروتئین‌ها که آنزیم سرین پروتئاز را مهار می‌کنند.

[۱۵] Iloprest دارویی است که در درمان بیماری‌هایی مانند پرفشاری ریوی که عروق اندام منقبض هستند، استفاده می‌شود.

◻ انتقال داخل سلولی

جهت انتقال ژن یا اسیدهای نوکلئیک به داخل سلول و گذر مستقیم از غشاء، از حامل‌های ویروسی و همچنین برخی از روش‌های فیزیکی انتقال ژن مانند الکتروپوریشن استفاده می‌گردد. حامل‌های لیپیدی مکانیسم‌های فیزیولوژیک فرایندهای خودبسته‌شوندگی غشاء را ایجاد می‌کنند و آسیب‌های فیزیکی به غشاء سلول اعمال نمی‌گردد. در رسانش لیپیدهای کاتیونیک حاوی siRNA، اغلب مواد توسط فرایند اندوسیتوز وارد سلول می‌شوند. با این وجود اخیراً اثبات شده‌است که برای انواع خاصی از فورمولاسیون‌های لیپید-siRNA، مکانیسم اساسی رسانش مستقیم به داخل سیتوزول است [۱۵۱].

در روش‌های دیگر مانند الکتروپوریشن (Electroporation)، از حامل‌های لیپیدی برای یکپارچه‌شدن با غشا و گذر از آن استفاده می‌گردد. در این روش برای انتقال مستقیم اسیدهای نوکلئیک، توسط جریان‌های الکتریکی، با به‌هم ریختن یکپارچگی غشای سلولی منافذ ناپایداری ایجاد می‌گردد که خود عاملی برای ایجاد سمیت سلولی است. در عوض برای اکثر پلی‌پلکس‌های پلیمری، برداشت سلولی توسط کلاترین یا کاوئولین و در ارتباط با فرایند اندوسیتوز است [۱۵۶-۱۵۲]. پلی‌پلکس‌ها به داخل اندوزوم‌ها واردشده و به‌هم-ریختگی در غشاء وزیکول‌های داخل سلولی اتفاق می‌افتد. دانستن این نکته حائز اهمیت است که تعدادی از فرایندهای برداشت در رسانش مواد فعال زیستی عملی نیستند و موانع داخل سلولی متوالی ممکن است به جایی ختم شوند که رسانش ناکام بماند [۱۵۶،۱۵۴،۱۵۱]. زیرا با گذر زمان وزیکول‌های اندوزومی اندکی اسیدی می‌شوند (pH 5-۶) و به لیزوزم‌ها اتصال می‌یابند. در این حالت محیط اسیدی لیزوزوم می‌تواند سبب تخریب اسیدهای نوکلئیک شود. بنابراین پلی‌پلکس باید این توانایی را داشته باشد که برای جلوگیری از تخریب اسیدهای نوکلئیک در محیط اسیدی لیزوزوم، از آن‌ها فرار کند و اسید-های نوکلئیک را برای اعمال اثرات درمانی به محل مورد نظر برساند. در این حالت پلی‌پلکس مربوطه باید فعالیت خاص و مخصوص با غشاء لیزوزوم داشته‌باشد و با به‌هم‌ریختن غشای لیزوزوم از آن فرار کند [۱۵۷]. البته لازم به ذکر است که این قابلیت به‌هم‌ریختگی غشا توسط پلی‌پلکس‌ها اگر در غشای سلول و یا غشای میتوکندری اتفاق بیفتد خطرناک و سمی است. بنابراین باید از پلیمرهایی استفاده کرد که تنها در محیط اسیدی اندوزوم خاصیت فوق را بروز دهند.

پلیمرهای PEI و PAMAM (پلی‌اتیلن‌ایمین و پلی‌آمیدوآمین) که به شکل نانوذرات دندریمری ساخته می‌شوند، در انتقال اسیدهای نوکلئیک مؤثر و کارا عمل کرده‌اند؛ زیرا رفتار مناسب و پویایی در پاسخ به محیط اسیدی اندوزوم‌ها نشان می‌دهند. این پلیمرها

مانند اسفنج‌هایی برای جذب پروتون عمل می‌کنند. نیتروژن‌های موجود در ساختار آن‌ها در pH خنثی تنها به اندازه ۲۰٪ پروتون جذب می‌کنند، اما با افت pH و اسیدی‌تر شدن محیط، مانند فضای داخل اندوزوم‌ها، میزان جذب پروتون توسط آن‌ها افزایش می‌یابد. با افزایش جذب پروتون‌ها، بار مثبت دندریمرهای فوق افزایش می‌یابد که منتج به جریانی از یون‌های کلر وآب به درون اندوزوم‌ها می‌شود و افزایش فشار اسمزی داخل اندوزوم را در پی خواهدداشت [۱۵۸]. به دلیل بالا رفتن فشار اسمزی اندوزوم‌ها، ناپایداری غشاء و پاره-شدن آن رخ می‌دهد و پلی‌پلکس مربوطه از اندوزوم خارج و وارد فضای سیتوزولی می‌گردد. به این خاصیت دندریمرها اصطلاحاً Proton sponge effect گفته می‌شود. البته لازم به ذکر است که دوز مورد نیاز برای اینکه PEI بتواند اثر فوق را اعمال و غشاء را پاره کند، به دوز سمی این پلیمر نزدیک است و در غلظت‌های پایین، پدیده فرار اندوزومی کارایی مناسبی نخواهدداشت. از پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر با اثر اسفنجی فوق، می‌توان به پلی‌آپارتا آمیدی[16] که حاوی واحدهای دی آمینواتیل است اشاره کرد که حاوی واحدهای اتیلن‌ایمین هستند و سمیت کمتری دارند [۴۱]. به طور مشابهی می‌توان با ایجاد تغییراتی درساختار PEI، سمیت آن را کاهش‌داد. به‌عنوان مثال با وارد نمودن پروپیونیک اسید یا سوکسیک اسید در ساختار PEI شاخه‌دار ۲۵ کلیودالتونی، بارهای مثبت از طریق ایجاد گروه‌های کربوکسیل در pH خنثی از بین‌می‌رود. این PEI تغییریافته که حاوی هر دو گروه کربوکسیل و نیتروژن درساختار خود است، کماکان دارای خاصیت اسفنجی برای جذب پروتون است. دندریمر فوق سمیت پایینی دارد و می‌توان غلظت بالاتری از آن را برای القاء فرار اندوزومی تجویز نمود. رسانش siRNA توسط PEI تغییریافته با گروه‌های اسیدی درمقایسه با PEI استاندارد مؤثرتر بوده‌است [۱۵۹،۱۶۰].

سایر پلیمرها مانند پلی- ال- لیزین نمی‌توانند در دوزهای پایین وغیرسمی غشای اندوزوم‌ها را ناپایدارکنند. برای افزایش کارایی انتقال ژن توسط پلی‌پلکس‌ها می‌توان اجزایی مانند ذرات غیرفعال گرفته‌شده از ویروس‌ها [۱۶۱،۱۶۲]، پروتئین‌های استخراج شده از برخی باکتری‌ها مانند لیستریولیزین[17] (LLO) [۱۶۳] و پروتئین‌های فعال داخل غشایی استخراج‌شده از ویروس‌ها مانند آنفلوانزا و یا انواع مشابه آن‌ها را از طریق اتصالات کووالانسی و یونی به ساختار پلی‌پلکس‌ها وارد نمود [۱۶۸-۱۳۸،۱۶۴]. همچنین نیش زنبور دارای ماده لیتیک

16 diaminoethyl residue-containing polyapartamide
17 listeriolysin

قوی به‌نام ملیتن[18] (MeL) است که از انواع مختلف مصنوعی آن در ساختار پلی‌پلکس‌ها استفاده شده است [۱۷۱-۱۶۹]. عواملی که درساختار قرار می‌گیرند را می‌توان به دو گروه تقسیم کرد. گروه اول دارای فعالیت وابسته به pH دراندوزم‌ها هستند (مانند پپتیدهای حاوی گروه‌های اسیدی) و در pH عادی و فیزیولوژیکی خواص لیتیک ندارند و گروه دوم مانند MeL و LLO که خواص لیتیک مرتبط با pH ندارند وسمیت بالایی را نیز القاء می‌کنند.

به جای استفاده از عوامل پپتیدی و پروتئینی می‌توان از سایر عوامل فعال غشایی در ساختار پلی‌پلکس‌ها استفاده کرد. به‌عنوان مثال می‌توان به کوپلیمرهای حساس به pH اشاره کرد که برای رسانش دارو وسایر ماکرومولکول‌های زیستی به‌کار می‌روند [۱۷۳،۱۷۲،۵۴]. کوپلیمرهای دوگانه‌دوستی که حاوی متاکریلیک اسید و بوتیل‌اکریلات هستند، خواص لیتیک وابسته به pH رانشان می‌دهند [۵۴]. مشتقات مختلف حساس به pH از پلی‌گلیسیدول[19] که حاوی اسیدهای‌دی‌کربوکسیلیک با آب دوستی‌های مختلف هستند، جهت بررسی توانایی‌شان برای ناپایدار کردن لیپوزوم درمحیط اسیدی اندوزوم مورد بررسی قرار گرفته‌اند. تعدادی از این پلیمرهایی که با pH تنظیم می‌شوند، اگر چه عمدتاً برای الحاق به لیپوزوم جهت مقاصد دارورسانی استفاده می‌شوند، ممکن‌است نقش مفیدی در ساختار پلی‌پلکس‌ها ایفا کنند [۱۷۵-۱۷۴].

مسیر داخل سلولی که پلی‌پلکس‌ها پس از رهایی از اندوزوم طی می‌کنند، هنوز کاملاً شناخته‌شده نیست. گلوگاه‌های موجود برسر راه رسانش ژن (PDNA) عبارتند از انتقال سیتوزولی به اطراف هسته، برداشت هسته‌ای و ارائه PDNA به شکل فعال خود به ماشین رونویسی هسته. در مواردی که از siRNA استفاده می‌شود، دسترسی نوکلئوتید فوق به عملکرد مورد نظر ضروری است. علاوه بر انتقال سیتوزولی [۱۷۷،۱۷۶] و ورود اسیدهای نوکلئیک بزرگ به هسته [۱۸۰-۱۷۸]، الحاق پپتیدهای عملکردی هسته نیز مورد بررسی قرار گرفته‌است [۱۸۶-۱۸۱]. گلوگاه دیگر جدا شدن اسیدهای نوکلئیک از ساختار پلی‌پلکس است [۱۸۷]. جدا کردن کامل و یا جزئی از حامل پلیمری که برای عملکرد بیولوژیکی اسید نوکلئیک لازم است، در قسمت‌های بعدی مورد بررسی قرار می‌گیرد.

۳- طراحی پلیمر پاسخگو به محیط زیستی

ویروس‌های طبیعی چگونگی انتقال اسیدهای نوکلئیک به سلول‌های پستانداران را به‌خوبی نشان می‌دهند. رازی که کارایی آن‌ها را از نانوذرات مصنوعی کلاسیک متمایز می‌کند، در رفتار پویا و پاسخگوی آن‌ها به محیط زیستی نهفته است. بنابراین برای ما و بسیاری

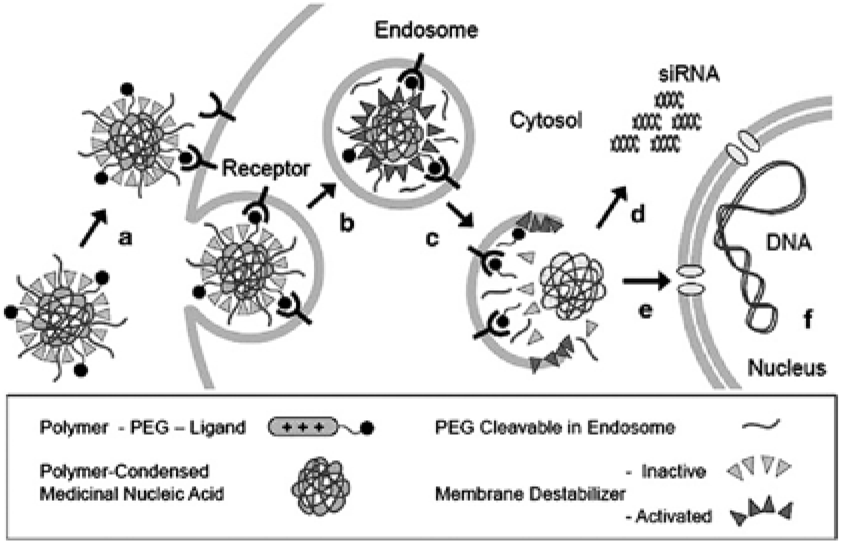
[18] Melittin
[19] polyglycidol

از محققان، طراحی نانوذراتی حاوی اسیدهای نوکلئیک که شباهت زیادی به ویروس‌ها داشته‌باشند، بسیار وسوسه‌کننده بوده‌است [۱۹۴-۶۹،۹۲،۱۶۴،۱۸۸].

پلیمرها را می‌توان طوری طراحی کرد که به شرایط محیط زیستی پاسخگو باشند و خصوصیات خود را در ساختارهای متفاوت بیولوژیکی تغییردهند (مانند بار و کانفورماسیون). آن‌ها را می‌توان به‌صورتی تنظیم کرد که حاوی پیوندهایی باشند که تحت شرایط موقتی و یافضایی خاصی شکسته شوند و یا به طریقی کنترل شده به هم متصل و از هم جدا شوند. این پاسخگو بودن در چندین مرحله از رسانش و انتقال لازم است (شکل ۱)

یک پلی‌پلکس پایدار و پوشیده‌شده باید بتواند درجریان خون گردش کند و بدون هیچ‌گونه برهمکنش نامطلوبی به سلول هدف برسد و پس از برهمکنش خاص با گیرنده‌های سطح سلول، وارد سلول شود. اگرچه تخریب غشای پپتیدی سلول دلخواه ما نیست، ولی پارگی غشای اندوزوم‌ها در جهت آزادی و رهایش پلی‌پلکس‌ها به داخل سیتوزول الزامی است. در طی انتقال داخل سلولی به محل مورد نظر، ساختار پلی‌پلکس باید به نحوی ضعیف شده‌باشد که اسید نوکلئیک برای اعمال عملکرد خود در دسترس قرار گیرد.

در این قسمت درباره چگونگی طراحی شیمیایی پلیمرها و پلی‌پلکس‌ها برای پاسخ‌گو بودن

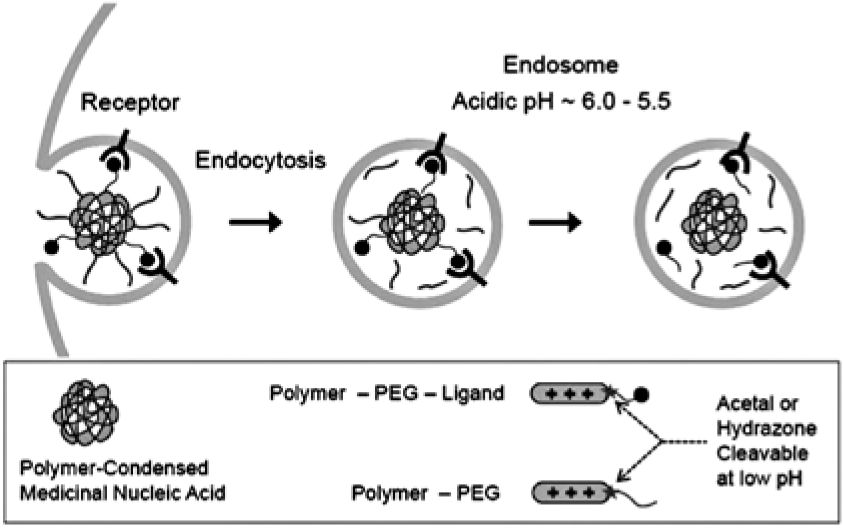


شکل ۱ پلیمرهای پاسخ‌گو به محیط زیستی. a) گردش سیستمیک پلی‌پلکس‌های پوشیده شده در گردش خون و اتصال به گیرنده‌های سطح سلول. b) اندوسیتوز در اندوزوم‌ها و برداشت لایه محافظ توسط برش پل‌های ارتباطی PEG و فعال‌شدن اجزای مخرب غشا توسط pH اسیدی و یا راه‌های دیگر. c) فرار اندوزومی به سیتوزول d) انتقال SiRNA برای خاموش نمودن RNA. e) مهاجرت سیتوزولی و انتقال Pdna به هسته. f) ارائه pDNA در شکل قابل دسترسی برای ماشین رونویسی

آن‌ها به شرایط زیستی بحث خواهیم کرد و در سه سطح مورد بررسی قرار می‌گیرند.
۱) پوشاندن سطح پلی‌پلکس‌ها ۲) برهم‌کنش با دولایه‌های لیپیدی ۳) پایداری پلی‌پلکس‌ها

□ ایجاد پوشش پاسخ‌گو به محیط زیستی بروی پلی‌پلکس

جهت جلوگیری از بسیاری از واکنش‌های بیولوژیکی در جریان خون، سطح پلی‌پلکس‌ها را باید پوشاند. اما پوشش فوق باید در حدی باشد که برهم‌کنش‌های الکترواستاتیک و یا لیگاند-گیرنده پلی‌پلکس‌ها با گیرنده‌های سطح سلول مهارنگردد. برای نیل به‌این هدف، پوشاندن سطح آن‌ها توسط PEG یا سایر پلیمرهای آب دوست مزایای فراوانی دارد (قسمت ۱. ۲). وجود پوشش پایدار و غیرقابل برگشت روی سطح پلی‌پلکس‌ها، از دو نظر عدم مزیت به حساب می‌آید. اول اینکه ممکن است از برهمکنش و اتصال پلی‌پلکس با سطح سلول‌های هدف جلوگیری کند؛ و دوم اینکه ممکن است جلوی برهم‌کنش تخریب‌کننده غشای لیپیدی اندوزوم را بگیرد. لیگاندهای اتصالی می‌توانند برهمکنش سطح سلول و پلی‌پلکس را تسهیل کنند [۸۲، ۷۵، ۶۸]، اما برهم‌کنش‌های پلیمرهای کاتیونی که در فرار از اندوزوم نقش دارند، تاثیری نخواهندداشت. برای غلبه بر مشکل فوق پوشش‌هایی که به شرایط زیستی حساس و پاسخ‌گو هستند، توسعه یافته‌اند (به‌عنوان مثال روش‌هایی که درپاسخ به شرایط محیط پوشش پلی‌پلکس حذف می‌شود) (شکل ۲).
تغییرات وابسته به محیط مانند pH [۱۹۷-۱۹۵، ۷۶،۶۹،۵۶،۵۵] فعالیت آنزیمی [۱۹۸]



شکل ۲. برداشتن لایه محافظ از پلی‌پلکس. بعد از اندوسیتوز پلی پلکس به داخل اندوزوم‌ها، لایه محافظ از طریق برش پیوندهای هیدرازون پلی اتیلن گلایکول و یا پیوندهای استال از روی پلی‌پلکس برداشته می‌شود.

پتانسیل احیاکننده باند دی‌سولفیدی [۸۳] به کار برده می‌شوند تا پس از رسیدن حامل به محل مورد نظر پوشش حفاظتی آب‌دوست برداشته‌شود.

به‌عنوان مثال‌هایی از برداشت پوشش وابسته به pH [۱۹۹] می‌توان از اتصالات ناپایدار استال در برابرتغییرات pH [۲۰۰، ۱۹۶،۱۷۲] و اتصالات دی‌اکلیل‌مالئیک‌اسید [۵۶] یا پیریدیل‌هیدرازون [۷۶، ۶۹] در داخل کانژوگه‌های پلیمر- PEG نام برد. برداشت لایه محافظ از پلی‌پلکس PEG-PEI/PDNA در pH محیط اندوزوم، انتقال ژن درمحیط درون‌تن و برون‌تن را تا ۱۰۰ برابر تقویت می‌کند [۷۶-۶۹]. توضیح منطقی برای این اثر مثبت این است که پس از برداشت پوشش PEG در داخل اندوزوم، بارهای مثبت PEI جهت تخریب غشای اندوزوم در دسترس قرار می‌گیرند. به‌همین‌صورت، لیپوپلی‌پلکس‌های DNA/PEI که لایه لیپیدی آن‌ها از طریق پیریل هیدرازون به PEG متصل است، از آنالوگ‌های آن‌ها که در برابر pH پایدارهستند، در رسانش ژن مؤثرتر بوده‌اند [۲۰۱].

در روش دیگری شکستن پیوندهای الکترواستاتیک در تغییرات pH به برداشت لایه پوششی از پلی‌پلکس منتهی می‌گردد [۱۹۷،۱۹۵،۷۸]. برای مثال می‌توان از طراحی حاملDNA/PEI با پوشش سولفونامیدی PSD-b-PEG[20] جهت رسانش DNA پلاسمیدی نام برد. در pH=۷/۴ پوشش مربوط به پلی‌پلکس DNA/PEI اتصال می‌یابد و از اسیدهای نوکلئیک موجود در آن محافظت می‌کند. در pH=۶/۶ که در محیطهایی مانند بافت خارج سلولی تومور و یا محیط اندوزوم رخ می‌دهد، PSD-b-PEG بار الکتریکی خود را به‌دلیل پروتونه شدن سولفونامید از دست می‌دهد و از سطح ذره پلی‌پلکس جدا می‌گردد. در این حالت PEI می‌تواند به غشاء برهم‌کنش داده و آن را تخریب کند [۱۹۵]. در این روش پوشش سولفونامیدی PSD-b-PEG قادر است تفاوت کوچک اسیدیته بین بافت توموری و سالم را تشخیص دهد و به‌عنوان سیستمی کارا در رسانش اسیدهای نوکلئیک عمل‌کند.

در بافت‌های توموری آنزیم‌های متالوپروتئیناز ماتریکس[21] (MMPs) بیش از حد بیان می‌شوند. حامل‌های لیپوزومی حاوی PDNA با پوشش PEG، به‌صورتی طراحی شده‌اند که اتصال پوشش PEG و لیپید توسط یک پل پپتیدی حساس به MMps برقرار می‌شود. پل ارتباطی فوق در محیط توموری توسط آنزیم‌های MMPs بریده‌شده و پوشش برداشته می‌شود و لیپوزوم حاوی DNA پلاسمیدی در دسترس قرار می‌گیرد [۱۹۸]. تجویز داخل وریدی این نانوذره به موش‌ها بیان PDNA در بافت توموری را افزایش می‌دهد، در صورتی

[20] PEG/methacryloyl sulfadimethoxine
[21] matrix metalloproteinases

که در نانوذره‌ای که پوشش قابل جدا شدن نداشت اثر فوق دیده نشده‌است.

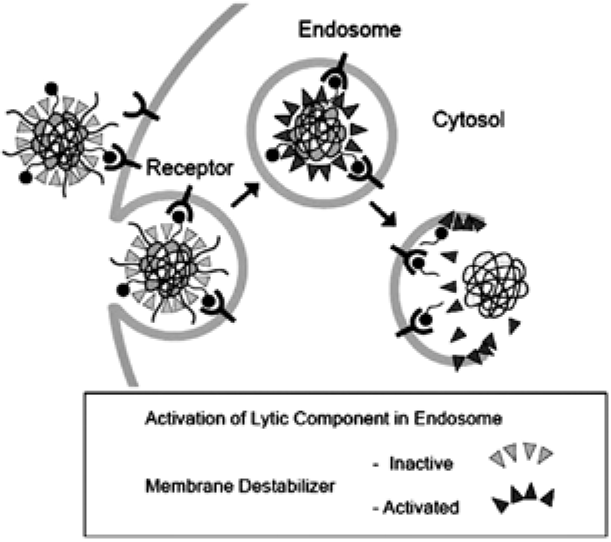
□ برهم‌کنش دولایه لیپیدی حساس به شرایط محیط

همان‌گونه که در بخش پیش نیز توضیح داده‌شد، فرار اندوزومی پلی‌پلکس‌ها به سیتوزول می‌تواند گلوگاه عمده و اصلی در رسانش آن‌ها باشد. برای غلبه براین مشکل، از دامنه‌های پلیمری که با غشاء برهم‌کنش دارند و یا سایر مولکول‌های کانژوگه شده‌استفاده می‌شود. مشکل عمده این دامنه‌های پلیمری این است که سبب سمیت سلولی در خارج و یا در سطح سلول می‌شوند. بنابراین عواملی که از غشاء عبور می‌کنند، یا باید به‌صورت ذاتی مخصوص ساختارهای اندوزومی باشند (به‌عنوان مثال به pH خاص حساس باشند) و یا اینکه باید طوری آن‌ها را تغییر داد که دراندوزوم‌ها فعال شوند.

از پوشش‌های ناپایدار در محیط اسیدی می‌توان برای پوشاندن عوامل آسیب‌رسان به غشای سلول استفاده نمود تا علیرغم ممانعت از تخریب غشای سلول، در محیط اسیدی اندوزوم جدا شوند. کوپلیمرهایی که شامل پلیمرهای آب دوست متاآکریلات هستند، می‌توانند غشاء را بهم بریزند. این پلیمرها از طریق پل‌های ارتباطی استال حساس به pH با PEG پوشیده می‌شوند [۱۷۲] تا علیرغم آسیب نرسیدن به غشای سلول، درمحیط اسیدی اندوزوم این پل پاره شود و پس از جداشدن پوشش PEG، پلیمرهای متاآکریلات برای تخریب غشای اندوزومی در دسترس قرارگیرند. مشتقات دی‌آکلیل‌مالئیک اسید[۲۲] جهت آسیلاسیون گروه آمینوی پلیمرهای پلی‌ونیل‌اتر که مخرب غشا هستند استفاده می‌شوند. این آسیلاسیون حساس به pH است و درمحیط اسیدی آندوزوم برداشته می‌شود. بنابراین پلیمر داخل اندوزوم می‌تواند با به‌هم‌ریختن غشای اندوزوم و تخریب آن وارد سیتوزول شود [۵۶]. روش فوق را می‌توان روی عوامل لیتیک مانند Mel نیز انجام داد و همان نتایج را انتظار داشت. [۲۰۵-۲۰۲، ۵۷]. به‌عنوان مثالی دیگر می‌توان دنباله‌های لیزین مرتبط با Mel را توسط دی‌متیل‌مالئیک انیدرید[۲۳] تغییر داد (DMMAn) و فعالیت لیتیک آن را مهار نمود. در pH اندوزومی گروه‌های DMMAn آزاد می‌شود و Mel که خصوصیات لیتیک قوی دارد جهت بهم ریختگی غشاء اندوزوم، درمعرض غشاء قرار می‌گیرد (شکل ۳). پلی‌ال‌لیزین (PLL) وقتی که به‌صورت کووالانسی با DMMAn تغییر داده‌شود، حدود ۱۸۰۰ بار بیشتر از PLL تغییر نیافته رسانش ژن را تقویت می‌نماید [۲۰۳] و همین‌طور وقتی با PEG پوشیده شود، انتقال مناسب و کارایی از siRNA صورت می‌گیرد [۲۰۳، ۵۷].

---

22 Dialkylmaleic acid
23 dimethyl maleic anhydride



شکل ۳. فعال سازی اجزای ناپایدار کننده غشا در pH اسیدی که فرار اندوزومی به سیتوزول را در پی دارد

□ پایداری پلی‌پلکس‌های حساس به شرایط محیطی

حامل پلیمری باید اسیدنوکلئیک دارویی را درخارج سلول به‌صورت پایداری فشرده نگه دارد و از آن در برابر تجزیه محافظت کند. اما در داخل سلول، پلی‌پلکس باید تا اندازه‌ای باز شود تا اسیدنوکلئیک بتواند فعالیت بیولوژیکی خود را اعمال کند.

خصوصیات شیمیایی متفاوتی را باید در خارج سلول، اندوزوم‌ها، سیتوزول و هسته به کار-برد تا فرایند رها شدن اسیدنوکلئیک از پلی‌پلکس به‌صورت کنترل‌شده‌ای مدیریت‌شود. اسیدنوکلئیک دارویی را می‌توان به دو صورت کووالانسی و غیرکووالانسی با حامل پلیمری متصل نمود. رهایی اسیدنوکلئیک از حامل در محل هدف ممکن است توسط فرایندهای تعویض چندیونی مانند RNA داخل سلولی [۲۰۶]، تجزیه پلیمر [۲۰۷] و جدا شدن اسیدنوکلئیک از محل‌های متصل به پلیمر [۵۴] صورت‌گیرد.

اتصال محکم پلیمر و اسیدنوکلئیک الزاماً به معنای کارایی بالا نیست و این اتصال باید در یک حد مناسب بهینه‌گردد. همچنین تفاوت زیادی در اندازه اسیدهای‌نوکلئیک متفاوت وجود دارد (به‌عنوان مثال PDNA چندین هزار بار منفی دارد اما siRNA تنها ۴۲ بار منفی دارد) که باید در نظرگرفته‌شود. به‌عنوان مثال سرنوشت داخل سلولی پلی‌اتیلن‌ایمین خطی (LPEI) با وزن مولکولی KDa22 و پلی‌اتیلن‌ایمین شاخه‌ای (brPEI KDa25) با استفاده از میکروسکوپ

کانفوکال و فن‌آوری FRET مورد مطالعه قرار گرفت [۲۰۸]. پلی‌پلکس‌های LPEI علیرغم داشتن پایداری کمتر، کارایی بالاتری دارند و پس از رسیدن به سیتوزول DNA را بسیار سریع‌تر از کمپلکس‌های پایدار brPEI رها می‌کنند. همین گروه تحقیقاتی دریافتند که [۲۰۹] جدا شدن ناکافی PEI از PDNA در داخل هسته، عامل محدودکننده اصلی بیان ژن به حساب می‌آید. در این راستا به نظر می‌رسد پلیمرهایی که تمایل کمتری به PDNA دارند، برای ترانسفکشن درمحیط برون‌تن مناسب و ارجح هستند.
از طرف دیگر پلی‌پلکس‌های PDNA/PEI درمحیط خارج سلولی درون‌تن پایداری کافی ندارند و بازشدن PEI و PEG-PEI توسط پروتئین‌های سرم، گلیکوزآمینوگلیکان‌های محلول و اجزای ماتریکس خارج سلولی مشاهده شده‌است [۸۱،۶۵،۶۴]. وضعیت مشاهده شده در مورد پلی‌پلکس‌های حاوی siRNA با شدت بیشتری رخ‌می‌دهد. این وضعیت توسط اسپکتروسکوپی فلورسانت افت و خیزی تائید شده‌است که نشان می‌دهد ذرات PEI حاوی siRNA درسرم کامل انسانی جدا می‌شوند [۶۷،۶۶].
کاربرد پلیمرهای حساس و پاسخ‌گو به شرایط زیستی یک راه حل منطقی برای رد شدن از سردرگمی ناشی از پایداری کم پلی‌پلکس‌ها در بیرون سلول و پایداری زیاد آن‌ها در داخل سلول است. این راهکارها شامل طراحی پلیمرهای زیست‌سازگار و با وزن مولکولی بالا است که در داخل سلول به تکه‌هایی با وزن مولکولی پایین وسمیت کم تبدیل می‌شوند. از پیوندهای قابل برش می‌توان از پیوندهای استال که درمحیط اسیدی اندوزوم جدا می‌شوند [۲۱۰،۲۰۰]، باندهای دی‌سولفیدی احیاشونده در سیتوزول [۲۱۲،۲۱۱،۲۰۷] و استرهای قابل هیدرولیز نام برد [۲۱۵-۲۱۳]. پلی‌پلکس‌ها را همچنین می‌توان به شکل ساختارهای قفس‌مانند برگشت‌پذیر ساخت و پایدار نمود [۲۱۷،۲۱۶،۱۰۹،۵۲-۵۰]. به عبارت دیگر می‌توان بین PDNA و پلیمرها کراس‌لینک‌های شیمیایی ایجاد نمود که تحت شرایط زیستی خاصی قاب برش باشند. به‌عنوان مثال ساختارهای شبه دندریمری که دارای الیگواتیلن‌ایمین[24] با وزن مولکولی پایین و استرهای زیست‌تخریب‌پذیر دی‌اکریلات[25] هستند [۲۱۹-۲۱۸]، می‌توانند PDNA را با کارایی بالا و سمیت کم از طریق سیستمیک به موش‌هایی که تومور درآن‌ها القا شده‌است برسانند. بیان ژن عمدتاً از زیر پوست محل تومور مشاهده گردید (بیان luciferase) [۲۲۰-۲۱۸]. اما پلی‌پلکس‌های فوق پایداری کمی دارند که می‌توان توسط لینکرهای دوعاملی اتصالات جانبی بین آمین‌های سطحی ایجاد کرد و میزان پایداری آن‌ها را افزایش داد. بهترین

---

24 oligoethylen imine
25 diacrylate esters

نتایج انتقال ژن وقتی به‌دست آمد که یک کراس‌لینکر حاوی دی‌سولفید زیستی جهت ایجاد ساختار قفس‌مانند به‌کار رفت [۱۰۹].

اتصال الکترواستاتیک siRNA یا الیگونوکلئوتیدها به پلیمرهای کاتیونیک، ضعیف‌تر از اتصال PDNA است. زیرا بارهای منفی کمتری در ساختار کوتاه آن‌ها وجود دارد. جهت غلبه بر این مشکل، الیگونوکلئوتیدها و siRNA را می‌توان به‌صورت کووالانسی به حامل‌هایشان اتصال داد [۵۳]. چنین اتصالی را می‌توان به‌صورتی انجام داد که به شرایط محیطی به‌طور برگشت‌پذیری پاسخ دهد. به‌عنوان‌مثال می‌توان از پیوندهای دی‌سولفیدی برای اتصال به حامل‌های پلیمری استفاده‌کرد. این پیوندها به سادگی در محیط احیاکننده سیتوزول شکسته می‌شوند [۵۴،۵۶،۵۷]. پلی‌پلکس‌های کووالانت درغلظتی از هپارین که کمپلکس-های پلی‌پلکس الکترواستاتیکی از هم جدا می‌شوند، پایدار هستند و جدا نمی‌شوند. تنها ترکیبی از هپارین با عامل‌های احیا کننده قادر است siRNA را از این کانژوگه‌ها جدا کند [۵۷].

۴- تدابیر درمانی

از زمان طراحی اولین پلی‌پلکس هدفمند که بیشتر از ۲۰ سال است [۱۳۴،۹۷]، تلاش‌های فراوانی جهت توسعه پلی‌پلکس‌ها در دو عرصه مطالعات دارویی حیوانی و انسانی، برای کاربرد آن‌ها به‌عنوان محصولات پزشکی صورت گرفته‌است. اشکال درمانی شامل درمان ex-vivo از سلول‌های بیمار انسانی جداشده، درمان‌های درون‌تن لوکالیزه و رسانش درون‌تن پلی‌پلکس‌ها (به‌عنوان چالش‌برانگیزترین روش رسانش) از طریق تزریق وریدی است.

◻ درمان‌های Ex-vivo و موضعی

اولین مطالعه بالینی ژن‌درمانی (ex-vivo) در انسان توسط پلی‌پلکس‌ها، با استفاده از واکسن‌های کانسری که بر پایه سلول‌های توموری خود بیمار بودند صورت گرفت. برای به‌دست آوردن نرخ بالای ترانسفکشن اینترلوکین۲ از سلول‌های تومور ابتدایی بیمار، از پلی‌پلکس‌های Tf/PLL/PDNA اتصال‌یافته با ذرات آدنوویروسی که قابلیت تخریب اندوزوم را داشتند استفاده شد [۲۲۱].

مطالعات انتقال ژن در محیط درون‌تن انسان، در بیماران مبتلا به فیبروزکیستیک صورت گرفت. در این مطالعه پلی‌پلکس‌های پگیله‌شده حاوی ژن GFTR (از طریق pDNA) بودند و برای رسانش به اپی‌تلیوم راه‌های هوایی استفاده شدند [۲۲۲]. همچنین تجویز داخل صفاقی پلی‌پلکس‌های PEI/pDNA حاوی ژن اینترلوکین۱۲ که با کلسترول تغییر یافته و پگیله‌شده‌بودند، برای بیمارانی مبتلا به کانسر تخمدان انجام شد [۲۲۳،۷]. فاز اول بالینی در این مطالعه نشان‌دهنده ایمن‌بودن تجویز و کاهش سطح سرمی CA-125 در تعدادی از بیماران بود.

در بیمارانی که دچار کانسر سطحی مثانه بودند، تزریق داخل مثانه‌ای پلی‌پلکس خطی /PEI PDNA مورد بررسی قرار گرفت. در این پلی‌پلکس، PDNA موجود در ساختار دارای توالی تنظیم کننده‌ای برای ژن H19 بود [۲۲۴،۶] و بیماران مبتلا به کانسر مثانه با گرید پایین بودند که H19 در آن‌ها بیان می‌شود. افزایش تزریق داخل مثانه‌ای از ۲-۲۰ میلی‌گرم پلاسمید در هربار صورت‌گرفت و افرادی که نتایج خوبی به تزریق نشان دادند، به مدت یک سال هر ماه یک‌بار این پلی‌پلکس‌ها را دریافت نمودند.

□ درمان‌های سیستمیک

رسانش هدفمند پلی‌پلکس‌های siRNA و PDNA از طریق سیستمیک در چندین مدل حیوانی انجام شده‌است. رسانش سیستمیک پلی‌پلکس‌های پوشیده‌شده با PEG که به گیرنده‌های EGFR (گیرنده فاکتور رشد پر درمان) سطح سلول متصل می‌شوند، در موشی که کارسینومای انسانی درآن القاء شده‌بود، موفقیت آمیز بود [۲۲۵]. اثرات درمانی در روش فوق، همراه با تزریق داخل صفاتی سلول‌های مونونوکلئاز عروق محیطی موفقیت و کارایی بیشتری را به‌همراه داشت [۲۲۶]. زیرا ورود پلی‌پلکس‌ها به سلول‌های توموری باعث تولید کموکین‌های مختلفی شد و منجربه فراخوانی بیشتر سلول‌های ایمنی شد که در درمان با پلی‌پلکس‌ها مشارکت می‌کنند. همچنین از لیگاندهای مرتبط با EGFR جهت رسانش پلی‌پلکس‌های حاوی ژن ناقل‌های دوطرفه سدیم-ید به سلول‌های تومور کبدی استفاده شده‌است. تزریق ایزوتوپ رادیواکتیو I-۱۳۱ پس از پلی‌پلکس مربوطه سبب تجمع ید در سلول‌های توموری کبد شد که نشان‌دهنده بیان پروتئین‌های ناقل این یون در غشای سلول‌ها است [۲۲۷].

محققان مختلف از راهکار هدف‌گیری گیرنده برای رسانش فاکتور نکروز بافتی تومور[۲۶] (TNFα) در مدل‌های فارماکولوژیکی استفاده نموده‌اند. به‌عنوان‌مثال، ترانسفرین یا پلی‌پلکس‌های پوشیده‌شده با PEG که با ترانسفرین هدفمند شده‌اند، برای رسانش و بیان محصولات ژنی سمی و محرک سیستم ایمنی به‌کاررفته و تاثیر منفی بر اندوتلیوم و سلول‌های تومور داشته‌اند. تجویز مکرر این فورمولاسیون سبب نکروز و توقف رشد تومور در چهار موشی شد که درهرکدام نوع خاصی از کانسر القاء شده‌بود [۲۲۸،۶۸]. از آنجایی که بیان TNFα به‌صورت بسیار لوکالیزه در داخل تومور اتفاق می‌افتد، هیچ‌گونه سمیتی که در ارتباط با این فاکتور باشد مشاهده نگردید. درمان فوق هنگامی که همراه تجویز دوکسیل[۲۷] (دوکسوروبسین فرموله‌شده در لیپوزوم‌ها) همراه شد، اثرات درمانی را بسیار تقویت نمود [۲۲۹].

---

26 alpha tumor necrosis factor

27 Doxil

پلی‌پلکس‌های ساخته‌شده از دندریمرهای PPI که حامل ژن $TNF\boldsymbol{\alpha}$ بودند، در سه موش با سه نوع کانسر نتایج رضایت‌بخشی را نشان دادند [۲۳۰]. در مطالعات اخیر مشخص شد که پلی‌پلکس‌های PPI که با ترانسفرین اتصال یافته‌بودند، رسانش ژن به تومور A431 را پس از تزریق وریدی افزایش دادند، منجر به افزایش کارایی درمان و جلوگیری از رشد تومور شدند و ٪۱۰۰ از موش‌ها زنده ماندند [۱۰۴]. پلی‌پلکس‌های پوشیده‌شده با PEG که حاوی ترانسفرین هستند، برای رسانش وریدی siRNA استفاده شده‌اند [۱۰۸-۱۰۶]. از این پلی‌پلکس‌ها برای رسانش siRNA علیه پروتئین هسته‌ای Ran استفاده شده‌است که منجر به کاهش بیش از ٪۸۰ بیان این پروتئین شده و آپوپتوز توموری و کاهش رشد تومور را در پی داشته‌است [۱۰۸]. در مطالعاتی که توسط آقای Pavis و همکارانش صورت گرفته‌است [۱۰۷،۱۰۶] از حامل‌های کاتیونی سیکلودکسترینی با پوشش TF-PEG استفاده شد. اتصال آن‌ها از طریق پیوندهای غیرکووالانسی آدامانتان سیکلودکسترین صورت‌گرفت. درچندین مطالعه نشان داده‌شد که ترانسفرین جز اساسی و ضروری فرمولاسیون برای رسانش siRNA جهت خاموش نمودن ژن‌ها درتومورهای القاءشده موش‌ها است [۲۳۱].

مقایسه اطلاعات حاصل از چگونگی پراکندگی پلی‌پلکس‌های siRNA متصل به ترانسفرین و پلی‌پلکس‌هایی بدون آن، نشان می‌دهد که تجمع مشابهی از آن‌ها در تومور وجود دارد [۲۳۲]، اما پلی‌پلکس‌های حاوی ترانسفرین کارایی بهتری در ورود به سلول و بیان ژن داشته‌اند. می‌توان نتیجه‌گیری کرد که با استفاده از لیگاندهای ترانسفرین، برداشت سلولی بیشتری در سلول‌های توموری اتفاق می‌افتد. وجود ترانسفرین در پلی‌پلکس‌های پگیله‌شده یک الزام مهم برای بالا بردن کارایی درمان است. درمان موش‌هایی که تومور در آن‌ها القاء شده‌است، توسط siRNA که واحد M2 از آنزیم ریبونوکلئوتید ردوکتاز[28] را شناسایی می‌کند سبب کاهش رشد تومور شده‌است [۱۰۷].

برپایه این یافته‌ها ومطالعات سم‌شناسی [۲۳۳]، فاز اول مطالعات بالینی انسانی شروع شده‌است [۲۳۴]. در نمونه‌برداری‌هایی که پس از درمان در بیماران مبتلا به ملانوما صورت گرفت، کاهشی در سطح mRNA خاص (واحد M2 از ریبونوکلئوتیدردوکتاز، RRM2) و پروتئین مرتبط با آن، نسبت به بافتی که دوزی دریافت نکرده‌است مشاهده‌شد. وجود یک تکه mRNA که نشان می‌دهد siRNA سبب برش mRNA شده‌است، در بیمارانی که دوز بالایی دریافت کرده‌بودند مشهود بود [۲۳۵]. این اطلاعات نشان می‌دهد که siRNA که به روش

---

[28] ribonucleotide reductase

سیستمیک تزریق می‌گردد، می‌تواند جلوی ترجمه mRNA و تولید پروتئین را بگیرد. این اطلاعات قدمی مهم و تشویق‌کننده را در روند کند انتقال ژن در پزشکی نشان می‌دهند [۹۷]. لازم به ذکر است که از طراحی پلی‌پلکس‌های حامل ترانسفرین تا مشاهده اثرات مستقیم مولکولی در انسان بیست سال می‌گذرد [۲۳۵].

۵-نتیجه‌گیری

در بیش از دو دهه توسعه، کانژوگه‌های پلیمری عامل‌دار به‌عنوان حامل‌های مفید در رسانش دارو و اسیدنوکلئیک شناخته شده‌اند. پلیمرهای پویا و حساس به محیط زیستی برای غلبه بهتر بر موانع چندین مرحله‌ای در رسانش ژن طراحی شده‌اند و با استفاده از شیمی ارتقاءیافته می‌توان ساختارهای پلیمری یک اندازه‌ای را به‌دست آورد که دارای اندازه، شکل و دامنه‌های انتقال مشخص و تعریف‌شده‌ای باشند [۲۳۷،۲۳۶]. همچنین به دلیل دانش مناسبی که برای تولید آن‌ها وجود دارد، می‌توان آن‌ها را وارد عرصه تولید با کاربری بالینی نمود. اولین حامل‌های پلیمری که به مراحل بالینی وارد شده‌اند، نتایج دلگرم‌کننده ای را نشان داده‌اند. چگونگی موفقیت‌آمیز بودن آن‌ها در مسیر توسعه‌های بالینی تا محصولات آینده پزشکی بسیار جالب و مهیج خواهد بود.

منابع

1. Duncan R (2003) The dawning era of polymer therapeutics. Nat Rev Drug Discov 2:347–360
2. Wolff JA, Malone RW, Williams P, Chong W, Acsadi G, Jani A, Felgner PL (1990) Direct gene transfer into mouse muscle in vivo 726. Science 247:1465–1468
3. Caplen NJ, Alton EW, Middleton PG, Dorin JR, Stevenson BJ, Gao X, Durham SR, Jeffery PK, Hodson ME, Coutelle C (1995) Liposome-mediated CFTR gene transfer to the nasal epithelium of patients with cystic fibrosis. Nat Med 1:39–46
4. Heller LC, Heller R (2006) In vivo electroporation for gene therapy. Hum Gene Ther 17:890–897
5. Tjelle TE, Rabussay D, Ottensmeier C, Mathiesen I, Kjeken R (2008) Taking electroporationbased delivery of DNA vaccination into humans: a generic clinical protocol. Methods Mol Biol 423:497–507
6. Sidi AA, Ohana P, Benjamin S, Shalev M, Ransom JH, Lamm D, Hochberg A, Leibovitch (2008) Phase I/II marker lesion study of intravesical BC-819 DNA plasmid in H19 over expressing superficial bladder cancer refractory to bacillus Calmette-Guerin. J Urol 180:2379–2383 Functional Polymer Conjugates for Medicinal Nucleic Acid Delivery 17
7. Anwer K, Barnes MN, Fewell J, Lewis DH, Alvarez RD (2010) Phase-I clinical trial of IL-12 plasmid/lipopolymer complexes for the treatment of recurrent ovarian cancer. Gene Ther 17:360–369

8. Bedikian AY, Richards J, Kharkevitch D, Atkins MB, Whitman E, Gonzalez R (2010) A phase 2 study of high-dose allovectin-7 in patients with advanced metastatic melanoma. Melanoma Res 20:218–226
9. Yamamoto A, Kormann M, Rosenecker J, Rudolph C (2009) Current prospects for mRNA gene delivery. Eur J Pharm Biopharm 71:484–489
10. Kormann MS, Hasenpusch G, Aneja MK, Nica G, Flemmer AW, Herber-Jonat S, Huppmann M, Mays LE, Illenyi M, Schams A, Griese M, Bittmann I, Handgretinger R, Hartl D, Rosenecker J, Rudolph C (2011) Expression of therapeutic proteins after delivery of chemically modified mRNA in mice. Nat Biotechnol 29:154–157
11. Yin H, Lu Q, Wood M (2008) Effective exon skipping and restoration of dystrophin expression by peptide nucleic acid antisense oligonucleotides in mdx mice. Mol Ther 16:38–45
12. Kr€utzfeldt J, Rajewsky N, Braich R, Rajeev K, Tuschl T, Manoharan M, Stoffel M (2005) Silencing of microRNAs in vivo with 'antagomirs'. Nature 438:685–689
13. Fabani MM, Gait MJ (2008) miR-122 targeting with LNA/2'-O-methyl oligonucleotide mixmers, peptide nucleic acids (PNA), and PNA-peptide conjugates. RNA 14:336–346
14. Crooke ST (2004) Progress in antisense technology. Annu Rev Med 55:61–95
15. Veedu RN, Wengel J (2009) Locked nucleic acid as a novel class of therapeutic agents. RNA Biol 6:321–323
16. Elbashir SM, Harborth J, Lendeckel W, Yalcin A, Weber K, Tuschl T (2001) Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells. Nature 411:494–498
17. Aagaard L, Rossi JJ (2007) RNAi therapeutics: principles, prospects and challenges. Adv Drug Deliv Rev 59:75–86
18. Meyer M, Wagner E (2006) Recent developments in the application of plasmid DNA-based vectors and small interfering RNA therapeutics for cancer. Hum Gene Ther 17:1062–1076
19. Aigner A (2006) Gene silencing through RNA interference (RNAi) in vivo: strategies based on the direct application of siRNAs. J Biotechnol 124:12–25
20. Gao K, Huang L (2009) Nonviral methods for siRNA delivery. Mol Pharmaceutics 6:651–658
21. Behlke MA (2008) Chemical modification of siRNAs for in vivo use. Oligonucleotides 18:305–319
22. Li L, Shen Y (2009) Overcoming obstacles to develop effective and safe siRNA therapeutics. Expert Opin Biol Ther 9:609–619
23. Frohlich T, Wagner E (2010) Peptide- and polymer-based delivery of therapeutic RNA. Soft Matter 6:226–234
24. Kota J, Chivukula RR, O'Donnell KA, Wentzel EA, Montgomery CL, Hwang HW,Chang TC, Vivekanandan P, Torbenson M, Clark KR, Mendell JR, Mendell JT (2009)Therapeutic microRNA delivery suppresses tumorigenesis in a murine liver cancer model. Cell 137:1005–1017
25. Aigner A, Fischer D, Merdan T, Brus C, Kissel T, Czubayko F (2002) Delivery of unmodified bioactive ribozymes by an RNA-stabilizing polyethylenimine (LMW-PEI) efficiently downregulates gene expression. Gene Ther 9:1700–1707
26. Tomita N, Azuma H, Kaneda Y, Ogihara T, Morishita R (2004) Application of decoyoligodeoxynucleotides-based approach to renal diseases. Curr Drug Targets 5:717–733

27. Rusconi CP, Scardino E, Layzer J, Pitoc GA, Ortel TL, Monroe D, Sullenger BA (2002) RNA aptamers as reversible antagonists of coagulation factor IXa. Nature 419:90–94
28. Ulrich H, Trujillo CA, Nery AA, Alves JM, Majumder P, Resende RR, Martins AH (2006) DNA and RNA aptamers: from tools for basic research towards therapeutic applications. Comb Chem High Throughput Screen 9:619–632 18 E. Wagner
29. Shir A, Ogris M, Wagner E, Levitzki A (2006) EGF receptor-targeted synthetic doublestranded RNA eliminates glioblastoma, breast cancer, and adenocarcinoma tumors in mice. PLoS Med 3:e6
30. Poeck H, Besch R, Maihoefer C, Renn M, Tormo D, Morskaya S, Kirschnek S, Gaffal E, Landsberg J, Hellmuth J, Schmidt A, Anz D, Bscheider M, Schwerd T, Berking C, Bourquin C, Kalinke U, Kremmer E, Kato H, Akira S, Meyers R, H€acker G, Neuenhahn M, Busch D, Ruland J, Rothenfusser S, Prinz M, Hornung V, Endres S, T€uting T, Hartmann G (2008) 50-Triphosphate-siRNA: turning gene silencing and Rig-I activation against melanoma. Nat Med 14:1256–1263
31. Besch R, Poeck H, Hohenauer T, Senft D, Hacker G, Berking C, Hornung V, Endres S, Ruzicka T, Rothenfusser S, Hartmann G (2009) Proapoptotic signaling induced by RIG-I and MDA-5 results in type I interferon-independent apoptosis in human melanoma cells. J Clin Invest 119:2399–2411
32. Pack DW, Hoffman AS, Pun S, Stayton PS (2005) Design and development of polymers for gene delivery. Nat Rev Drug Discov 4:581–593
33. Wagner E, Kloeckner J (2006) Gene delivery using polymer therapeutics. Adv Polym Sci 192:135–173
34. Schaffert D, Wagner E (2008) Gene therapy progress and prospects: synthetic polymer-based systems. Gene Ther 15:1131–1138
35. Wagner E (2008) The silent (R)evolution of polymeric nucleic acid therapeutics. Pharm Res 25:2920–2923
36. Felgner PL, Barenholz Y, Behr JP, Cheng SH, Cullis P, Huang L, Jessee JA, Seymour L, Szoka F, Thierry AR, Wagner E, Wu G (1997) Nomenclature for synthetic gene delivery systems. Hum Gene Ther 8:511–512
37. Wagner E, Ogris M, Zauner W (1998) Polylysine-based transfection systems utilizing receptor-mediated delivery. Adv Drug Deliv Rev 30:97–113
38. Zauner W, Kichler A, Schmidt W, Sinski A, Wagner E (1996) Glycerol enhancement of ligand-polylysine/DNA transfection. Biotechniques 20:905–913
39. Zou SM, Erbacher P, Remy JS, Behr JP (2000) Systemic linear polyethylenimine (L-PEI)- mediated gene delivery in the mouse. J Gene Med 2:128–134
40. van de Wetering P, Cherng JY, Talsma H, Crommelin DJ, Hennink WE (1998) 2-(Dimethylamino)ethyl methacrylate based (co)polymers as gene transfer agents 1031. J Control Release 53:145–153
41. Miyata K, Oba M, Kano MR, Fukushima S, Vachutinsky Y, Han M, Koyama H, Miyazono K, Nishiyama N, Kataoka K (2008) Polyplex micelles from triblock copolymers composed of tandemly aligned segments with biocompatible, endosomal escaping, and DNA-condensing functions for systemic gene delivery to pancreatic tumor tissue. Pharm Res 25:2924–2936
42. Boussif O, Lezoualc'h F, Zanta MA, Mergny MD, Scherman D, Demeneix B, Behr JP (1995) A versatile vector for gene and oligonucleotide transfer into cells in culture and in vivo: polyethylenimine. Proc Natl Acad Sci USA 92:7297–7301
43. Tang MX, Szoka FC (1997) The influence of polymer structure on the interactions

of cationic polymers with DNA and morphology of the resulting complexes. Gene Ther 4:823–832
44. Fant K, Esbjorner EK, Lincoln P, Norden B (2008) DNA condensation by PAMAM dendrimers: self-assembly characteristics and effect on transcription. Biochemistry 47:1732–1740
45. Kukowska-Latallo JF, Bielinska AU, Johnson J, Spindler R, Tomalia DA, Baker JR Jr (1996) Efficient transfer of genetic material into mammalian cells using Starburst polyamidoamine dendrimers. Proc Natl Acad Sci USA 93:4897–4902
46. Zhou J, Wu J, Hafdi N, Behr JP, Erbacher P, Peng L (2006) PAMAM dendrimers for efficient siRNA delivery and potent gene silencing. Chem Commun (Camb) 2006:2362–2364
47. Prevette LE, Kodger TE, Reineke TM, Lynch ML (2007) Deciphering the role of hydrogen bonding in enhancing pDNA-polycation interactions. Langmuir 23:9773–9784 Functional Polymer Conjugates for Medicinal Nucleic Acid Delivery 19
48. Philipp A, Zhao X, Tarcha P, Wagner E, Zintchenko A (2009) Hydrophobically modified oligoethylenimines as highly efficient transfection agents for siRNA delivery. Bioconjug Chem 20:2055–2061
49. Creusat G, Zuber G (2008) Self-assembling polyethylenimine derivatives mediate efficient siRNA delivery in mammalian cells. Chembiochem 9:2787–2789
50. Trubetskoy VS, Loomis A, Slattum PM, Hagstrom JE, Budker VG, Wolff JA (1999) Caged DNA does not aggregate in high ionic strength solutions. Bioconjug Chem 10:624–628
51. Tamura A, Oishi M, Nagasaki Y (2009) Enhanced cytoplasmic delivery of siRNA using a stabilized polyion complex based on PEGylated nanogels with a cross-linked polyamine structure. Biomacromolecules 10:1818–1827
52. Oupicky D, Parker AL, Seymour LW (2002) Laterally stabilized complexes of DNA with linear reducible polycations: strategy for triggered intracellular activation of DNA delivery vectors. J Am Chem Soc 124:8–9
53. Leonetti JP, Degols G, Lebleu B (1990) Biological activity of oligonucleotide-poly(L-lysine) conjugates: mechanism of cell uptake 381. Bioconjug Chem 1:149–153
54. Bulmus V, Woodward M, Lin L, Murthy N, Stayton P, Hoffman A (2003) A new pHresponsive and glutathione-reactive, endosomal membrane-disruptive polymeric carrier for intracellular delivery of biomolecular drugs. J Control Release 93:105–120
55. Oishi M, Nagasaki Y, Itaka K, Nishiyama N, Kataoka K (2005) Lactosylated poly(ethylene glycol)-siRNA conjugate through acid-labile beta-thiopropionate linkage to construct pHsensitive polyion complex micelles achieving enhanced gene silencing in hepatoma cells. J Am Chem Soc 127:1624–1625
56. Rozema DB, Lewis DL, Wakefield DH, Wong SC, Klein JJ, Roesch PL, Bertin SL, Reppen TW, Chu Q, Blokhin AV, Hagstrom JE, Wolff JA (2007) Dynamic PolyConjugates for targeted in vivo delivery of siRNA to hepatocytes. Proc Natl Acad Sci USA 104:12982–12987
57. Meyer M, Dohmen C, Philipp A, Kiener D, Maiwald G, Scheu C, Ogris M, Wagner E (2009) Synthesis and biological evaluation of a bioresponsive and endosomolytic siRNA-polymer conjugate. Mol Pharmaceutics 6:752–762
58. Hagstrom JE, Hegge J, Zhang G, Noble M, Budker V, Lewis DL, Herweijer H, Wolff JA (2004) A facile nonviral method for delivering genes and siRNAs to skeletal muscle

of mammalian limbs. Mol Ther 10:386–398
59. Lemkine GF, Goula D, Becker N, Paleari L, Levi G, Demeneix BA (1999) Optimisation of polyethylenimine-based gene delivery to mouse brain. J Drug Target 7:305–312
60. Lysik MA, Wu-Pong S (2003) Innovations in oligonucleotide drug delivery. J Pharm Sci 92:1559–1573
61. Bergen M, Chen R, Gonzalez R (2003) Efficacy and safety of HLA-B7/beta-2 microglobulin plasmid DNA/lipid complex (Allovectin-7) in patients with metastatic melanoma. Expert Opin Biol Ther 3:377–384
62. Plank C, Mechtler K, Szoka FC Jr, Wagner E (1996) Activation of the complement system by synthetic DNA complexes: a potential barrier for intravenous gene delivery. Hum Gene Ther 7:1437–1446
63. Ogris M, Wagner E (2002) Tumor-targeted gene transfer with DNA polyplexes. Somat Cell Mol Genet 27:85–95
64. Merdan T, Kunath K, Petersen H, Bakowsky U, Voigt KH, Kopecek J, Kissel T (2005) PEGylation of poly(ethylene imine) affects stability of complexes with plasmid DNA under in vivo conditions in a dose-dependent manner after intravenous injection into mice. Bioconjug Chem 16:785–792
65. Burke RS, Pun SH (2008) Extracellular barriers to in vivo PEI and PEGylated PEI polyplexmediated gene delivery to the liver. Bioconjug Chem 19:693–704
66. Buyens K, Lucas B, Raemdonck K, Braeckmans K, Vercammen J, Hendrix J, Engelborghs Y, De Smedt SC, Sanders NN (2008) A fast and sensitive method for measuring the integrity of siRNA-carrier complexes in full human serum. J Control Release 126:67–76 20 E. Wagner
67. Buyens K, Meyer M, Wagner E, Demeester J, De Smedt SC, Sanders NN (2010) Monitoring the disassembly of siRNA polyplexes in serum is crucial for predicting their biological efficacy. J Control Release 141:38–41
68. Kursa M, Walker GF, Roessler V, Ogris M, Roedl W, Kircheis R, Wagner E (2003) Novel shielded transferrin-polyethylene glycol-polyethylenimine/DNA complexes for systemic tumor-targeted gene transfer. Bioconjug Chem 14:222–231
69. Walker GF, Fella C, Pelisek J, Fahrmeir J, Boeckle S, Ogris M, Wagner E (2005) Toward synthetic viruses: endosomal pH-triggered deshielding of targeted polyplexes greatly enhances gene transfer in vitro and in vivo. Mol Ther 11:418–425
70. Malek A, Czubayko F, Aigner A (2008) PEG grafting of polyethylenimine (PEI) exerts different effects on DNA transfection and siRNA-induced gene targeting efficacy. J Drug Target 16:124–139
71. Zhang X, Pan SR, Hu HM, Wu GF, Feng M, Zhang W, Luo X (2008) Poly(ethylene glycol)- block-polyethylenimine copolymers as carriers for gene delivery: effects of PEG molecular weight and PEGylation degree. J Biomed Mater Res A 84:795–804
72. Brus C, Petersen H, Aigner A, Czubayko F, Kissel T (2004) Physicochemical and biological characterization of polyethylenimine-graft-poly(ethylene glycol) block copolymers as a delivery system for oligonucleotides and ribozymes. Bioconjug Chem 15:677–684
73. Kim SH, Jeong JH, Lee SH, Kim SW, Park TG (2006) PEG conjugated VEGF siRNA for anti-angiogenic gene therapy. J Control Release 116:123–129
74. Beh CW, Seow WY, Wang Y, Zhang Y, Ong ZY, Ee PL, Yang YY (2009) Efficient delivery of Bcl-2-targeted siRNA using cationic polymer nanoparticles: downregulating mRNA expression level and sensitizing cancer cells to anticancer drug. Biomacromolecules 10:41–48

75. Kircheis R, Schuller S, Brunner S, Ogris M, Heider KH, Zauner W, Wagner E (1999) Polycation-based DNA complexes for tumor-targeted gene delivery in vivo. J Gene Med 1:111–120
76. Fella C, Walker GF, Ogris M, Wagner E (2008) Amine-reactive pyridylhydrazone-basedPEG reagents for pH-reversible PEI polyplex shielding. Eur J Pharm Sci 34:309–320
77. Taratula O, Garbuzenko OB, Kirkpatrick P, Pandya I, Savla R, Pozharov VP, He H, Minko T (2009) Surface-engineered targeted PPI dendrimer for efficient intracellular and intratumoral siRNA delivery. J Control Release 140:284–293
78. Finsinger D, Remy JS, Erbacher P, Koch C, Plank C (2000) Protective copolymers for nonviral gene vectors: synthesis, vector characterization and application in gene delivery. Gene Ther 7:1183–1192
79. Rudolph C, Schillinger U, Plank C, Gessner A, Nicklaus P, Muller R, Rosenecker J (2002) Nonviral gene delivery to the lung with copolymer-protected and transferrin-modified polyethylenimine 1. Biochim Biophys Acta 1573:75
80. Ogris M, Brunner S, Schuller S, Kircheis R, Wagner E (1999) PEGylated DNA/transferrin- PEI complexes: reduced interaction with blood components, extended circulation in blood and potential for systemic gene delivery. Gene Ther 6:595–605
81. Merkel OM, Librizzi D, Pfestroff A, Schurrat T, Buyens K, Sanders NN, De Smedt SC, Behe M, Kissel T (2009) Stability of siRNA polyplexes from poly(ethylenimine) and poly (ethylenimine)-g-poly(ethylene glycol) under in vivo conditions: effects on pharmacokinetics and biodistribution measured by Fluorescence Fluctuation Spectroscopy and Single Photon Emission Computed Tomography (SPECT) imaging. J Control Release 138:148–159
82. Fisher KD, Ulbrich K, Subr V, Ward CM, Mautner V, Blakey D, Seymour LW (2000) A versatile system for receptor-mediated gene delivery permits increased entry of DNA into target cells, enhanced delivery to the nucleus and elevated rates of transgene expression. Gene Ther 7:1337–1343
83. Carlisle RC, Etrych T, Briggs SS, Preece JA, Ulbrich K, Seymour LW (2004) Polymer-coated polyethylenimine/DNA complexes designed for triggered activation by intracellular reduction. J Gene Med 6:337–344 Functional Polymer Conjugates for Medicinal Nucleic Acid Delivery 21
84. Hornof M, de la FM, Hallikainen M, Tammi RH, Urtti A (2008) Low molecular weight hyaluronan shielding of DNA/PEI polyplexes facilitates CD44 receptor mediated uptake in human corneal epithelial cells. J Gene Med 10:70–80
85. Ito T, Yoshihara C, Hamada K, Koyama Y (2010) DNA/polyethyleneimine/hyaluronic acid small complex particles and tumor suppression in mice. Biomaterials 31:2912–2918
86. Kurosaki T, Kitahara T, Fumoto S, Nishida K, Nakamura J, Niidome T, Kodama Y, Nakagawa H, To H, Sasaki H (2009) Ternary complexes of pDNA, polyethylenimine, and gamma-polyglutamic acid for gene delivery systems. Biomaterials 30:2846–2853
87. Kurosaki T, Kitahara T, Kawakami S, Higuchi Y, Yamaguchi A, Nakagawa H, Kodama Y, Hamamoto T, Hashida M, Sasaki H (2010) Gamma-polyglutamic acid-coated vectors for effective and safe gene therapy. J Control Release 142:404–410
88. Kircheis R, Wightman L, Schreiber A, Robitza B, Rossler V, Kursa M, Wagner E (2001) Polyethylenimine/DNA complexes shielded by transferrin target gene expression to tumors after systemic application. Gene Ther 8:28–40
89. Maeda H (2001) The enhanced permeability and retention (EPR) effect in tumor